Postverlagsort Berlin

FRESENIUS' ZEITSCHRIFT FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

158. BAND, 2. HEFT

MIT 29 ABBILDUNGEN IM TEXT

(ABGESCHLOSSEN AM 5. OKTOBER 1957)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

J. F. BERGMANN · MÜNCHEN

1957

Z.anal. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für Analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28–30
Fernsprecher 27901
Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 249251

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 158 — **Inhaltsverzeichnis** — Heft 2

Originalabhandlungen — Seite

Pfrengle, O., Die Papierchromatographie der kondensierten Phosphate. Mit 5 Textabbildungen 81

Hartkamp, H., und **H. Specker,** Papierchromatographische Kationentrennungen. II. Das chromatographische Verhalten von Metallchloriden im Laufmittelsystem Tetrahydrofuran-Wasser-Chlorwasserstoff. Mit 13 Textabbildungen 92

Khalifa, H., Fast Grey R. A. as a New Colorimetric Reagent. Part II. Spectrophotometric Microdetermination of Copper. With 4 Figures in the text 103

Khalifa, H., and **A. Farag,** Fast Grey R. A. as a New Colorimetric Reagent. Part III. Microdetermination of Vanadium. With 5 Figures in the text . 109

Sant, B. R., Ferricyanide-Iodometric Determination of Hydroxylamine . . 116

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Aus der wissenschaftlichen Abteilung der Chemischen Fabrik Budenheim A.G., Mainz

Die Papierchromatographie der kondensierten Phosphate*

Von

OTTO PFRENGLE

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. April 1957)

Die stürmische Entwicklung der Chemie der kondensierten Phosphate in den letzten Jahren ist ohne die Papierchromatographie nicht denkbar. Die Möglichkeit einer vollständigen Auftrennung nach verschiedenen Kettenlängen, wie auch die verhältnismäßig geringe Anfälligkeit gegen Störungen, sei es durch andere Phosphate, sei es durch Fremdstoffe, haben dazu geführt, daß sich das neue Analysenverfahren innerhalb weniger Jahre allgemein durchgesetzt hat, wobei die einfache Durchführung — zum mindesten der qualitativen Analyse — ein weiterer Vorzug ist.

Die grundlegenden Arbeiten zu diesem Gegenstand sind offenbar unabhängig voneinander an drei Stellen durchgeführt worden, und zwar in Europa von EBEL[4,5,6], in Kanada von WESTMAN[13,14] und in Japan von ANDO u. a.[1]. In Deutschland haben zuerst GRUNZE und THILO[8,15] darüber berichtet; weitere Arbeiten erschienen von CROWTHER[2,3], GERRITSMA u. FREDERIKS[7], KÖBERLEIN u. MAIR-WALDBURG[10] und KARL-KROUPA[9].

Die ersten Arbeiten hatten sich lediglich eine qualitative Identifizierung zum Ziele gesetzt, doch bald wurde die chromatographische Trennung auch für die quantitative Bestimmung der Phosphate ausgestaltet[2,5,7,9,10,14,15]. Dabei verwenden die kanadischen Forscher die absteigende Chromatographie, während die europäischen Autoren die aufsteigende Methode bevorzugen. Als Fließmittel werden die verschiedensten Gemische von mit Wasser mischbaren organischen Lösungsmitteln mit Wasser und kleinen Säurezusätzen verwendet; Amylalkohol, tert. Butylalkohol, Isobutylalkohol, Isopropylalkohol und Propylalkohol sind die meist verwendeten Lösungsmittel, Ameisensäure, Essigsäure und Trichloressigsäure die bevorzugten Säuren. Ein kleiner Zusatz von Ammoniak verbessert die Trennung.

Die Sichtbarmachung der Phosphatflecken geschieht allgemein durch die Molybdänblaureaktion. Nach Trocknung wird das Papier mit einer sauren Ammoniummolybdatlösung besprüht. Die Reduktion zu Phosphormolybdänblau wird durch Bestrahlen mit einer UV-Lampe, durch Behandlung mit Schwefelwasserstoffgas oder durch Besprühen mit einer Reduktionslösung, z. B. Zinn(II)-chlorid oder Hydrazinhydrochlorid erreicht.

Zur quantitativen Bestimmung werden im allgemeinen die durch die Molybdänblaureaktion kenntlich gemachten Flecken ausgeschnitten und mineralisiert, was durch Veraschen oder durch Behandlung mit Perchlorsäure geschehen kann. Anschließend wird nach dem Verkochen zu Orthophosphat colorimetriert, wofür meist ebenfalls die Molybdänblaureaktion Verwendung findet.

---

* Nach einem Vortrag des Verfassers anläßlich der Tagung des Chemisch-technischen Arbeitsausschusses des Verbandes deutscher Seifenfabrikanten und der Fachgruppen VI und VII der DGF am 17./18. Mai 1956 in Rothenburg o. T.

Köberlein u. Mair-Waldburg[10], die ringchromatographisch arbeiten, machen die einzelnen Ringe durch Besprühen mit einer butylalkoholischen Eisenrhodanidlösung kenntlich und schneiden die so sichtbar gemachten Ringe für die quantitative Bestimmung aus. Sie hatten nämlich festgestellt, daß beim Kenntlichmachen mit der Molybdänblaumethode beim Veraschen Verbindungen entstehen, die bei der nachträglichen colorimetrischen Bestimmung zu hohe Werte verursachen. Gerritsma u. Frederiks[7] entwickeln nur einen Teststreifen und schneiden für die quantitative Bestimmung die nicht entwickelten Phosphatflecken dem Teststreifen entsprechend blanko aus, vermutlich, weil sie sonst ebenfalls Störungen der Colorimetrie befürchten. (Wieker[15] extrahiert vermutlich aus diesem Grunde das Phosphormolybdänblau mit Isobutanol.)

Bei dem im Budenheimer Laboratorium ausgearbeiteten Verfahren werden die quantitativ zu bestimmenden Phosphatflecken ebenfalls „blind" geschnitten, und zwar nach einem Vorschlag von Kubens*, der im Jahre 1953 in diesem Laboratorium umfangreiche Arbeiten auf dem Gebiet der Papierchromatographie der Phosphate durchgeführt hat. Er hatte damals festgestellt, daß bei der Hydrolyse der durch die Molybdänblaureaktion kenntlich gemachten Phosphatflecken zu Orthophosphat in saurem Medium zum Zwecke der Colorimetrie während des Kochens eine bleibende Grünfärbung entsteht, die auf eine teilweise Reduktion der entstehenden Phosphormolybdänsäure und Isopolysäuren des Molybdäns zurückzuführen ist. Diese Grünfärbung stört aber bei der anschließenden Colorimetrie nach Scheel-Lederle, die im hiesigen Laboratorium bevorzugt wird. Spätere Versuche ergaben, daß auch bei anderen Ausführungsformen der Phosphor-Molybdänblaucolorimetrie gelegentlich solche Störungen auftreten können, wenn die zur quantitativen Bestimmung dienenden ausgeschnittenen Flecken vorher mit der Molybdänblaureaktion kenntlich gemacht worden sind.

Um jedoch das „Blindschneiden" möglichst sicher zu gestalten, war es notwendig, die einzelnen Phosphatflecken in gleichmäßigen, möglichst großen Abständen voneinander, klar abgegrenzt und ohne Verzögerungsschatten zu erhalten. Bei den bisher beschriebenen Fließmitteln schien dies noch nicht in befriedigender Weise gegeben zu sein, weshalb hier ein Dioxan-Trichloressigsäure-Essigsäure-Wassergemisch mit einem kleinen Zusatz von Ammoniak verwendet wird, oder vorzugsweise ein Dioxan-Isopropylalkohol-Trichloressigsäure-Essigsäure-Wassergemisch mit Ammoniakzusatz. Dieses sei im folgenden als „Dioxan-Fließmittel" bezeichnet, zum Unterschied zu dem „Isopropylalkohol-Fließmittel" („Lösungsmittel II" nach Grunze u. Thilo[8]) oder dem „Methanol-Fließmittel" (siehe weiter unten). Dioxan als Fließmittel war ebenfalls von Kubens schon in Erwägung gezogen worden. Während der Diskussion zu einem Vortrage des Verfassers wurde bereits auf das Dioxan-Fließmittel hingewiesen**.

* Dr. Rolf Kubens, jetzt Leverkusen.

** DGF-Hauptversammlung am 26. IX. 1955 in Münster/Westf.

Das Papier wird nach dem Vorschlage von REINDEL u. HOPPE ([12], vgl. auch [8]) zackenförmig ausgeschnitten, was sich recht gut bewährt hat. Um mehr Untersuchungslösung für die spätere Colorimetrie aufbringen zu können, wird ein Papier mit 9 solcher Zacken verwendet, von denen der erste frei bleibt, die fünf nächsten für die quantitative Bestimmung dienen, der nächste wieder frei bleibt und die beiden letzten einen zu entwickelnden Teststreifen bilden, wobei der eine Startpunkt nochmals mit Untersuchungslösung, der letzte mit Testlösung beschickt wird. Das Freilassen der ersten und siebenten Bahn verhindert das Auftreten von Randerscheinungen und gewährleistet, daß die korrespondierenden Flecken genau auf einer Parallele zur Grundlinie liegen.

Das Eluieren und Verkochen geschieht in einem einzigen Arbeitsgang mit 1 n Schwefelsäure, wobei es dahingestellt sei, ob diese Methode vor einer völligen Mineralisierung und nachträglicher Verkochung zu Orthophosphat den Vorzug verdient. Dieser Arbeitsgang muß über Nacht im bedeckten Kölbchen bei 90° C geschehen, wobei vollständige Hydrolyse und Eluierung erfolgt. Bei Gegenwart hochmolekularer Anteile werden diese trotzdem nicht vollständig erfaßt, weshalb die hochmolekulare Fraktion anders behandelt wird: Es wird 2 Std lang am Rückflußkühler gekocht, wonach vollständige Hydrolyse und Ablösung vom Papier eingetreten ist. Für eilige Analysen können die anderen Phosphatfraktionen ebenso behandelt werden. Das ganze Verfahren hat den Vorteil der Einfachheit.

Die Colorimetrie ist nach verschiedenen Methoden durchführbar. Es wird das Verfahren von SCHEEL-LEDERLE bevorzugt[11], weil die Lösungen verhältnismäßig gut lagerbeständig sind und die Reduktionslösung zum Entwickeln der Teststreifen wie auch zur Colorimetrie gleichermaßen verwendet werden kann. Die Molybdatlösung zum Entwickeln der Teststreifen wird stärker konzentriert angewandt als bei der Colorimetrie.

A. Qualitative Papierchromatographie

Für ihre Durchführung werden im Budenheimer Laboratorium zwei Fließmittel verwendet, und zwar das „Methanol-Fließmittel" und das „Dioxan-Fließmittel". Das erstere wird in solchen Fällen angewandt, wo es darauf ankommt, rasch zu einem Ergebnis zu kommen. Die normale Laufzeit ist 4 Std; in besonders eiligen Fällen (z. B. im Laufe technischer Großversuche) kann der Lauf auch schon nach 2 Std unterbrochen werden, und man erhält ein für die meisten praktischen Zwecke noch ausreichendes Bild.

Das Dioxan-Fließmittel ist das auch für die quantitative Chromatographie vorgeschlagene. Es hat eine normale Laufzeit von 16 Std; der Lauf beginnt also üblicherweise abends und wird am anderen Morgen beendet. Die R_f- und P_k-Werte (über diese Begriffe siehe GRUNZE u. THILO[1]) sind unter Verwendung von Natriumphosphaten folgende (Tab. 1):

Tabelle 1

	Dioxan-Fließmittel (16 Std)		Methanol-Fließmittel (4 Std)	
	R_f	P_k	R_f	P_k
Orthophosphat	0,70	100	0,79	100
Pyrophosphat	0,50	71	0,68	86
Tri(poly-)phosphat	0,38	54	0,58	74
Tetraphosphat	0,25	35	0,47	60
Pentaphosphat	0,18	26	0,36	45
Hexaphosphat	0,13	18	0,25	31
Heptaphosphat	0,09	12,5	0,15	19
Trimetaphosphat	0,21	30	0,39	50
Tetrametaphosphat	0,13	18	0,22	28

Die R_f-Werte verschieben sich während des mehrmaligen Gebrauchs des Fließmittels etwas. Die angegebenen Werte sind beim zweiten Lauf gemessen worden und sind Mittelwerte. Leider sind auch bei allen in der Literatur angegebenen Fließmitteln die R_f- und P_k-Werte nicht exakt reproduzierbar.

Wie auch aus der Abb. 1 hervorgeht, welche qualitative Chromatogramme mit verschiedenen Fließmitteln zeigt, sind sowohl beim Dioxan- als auch insbesondere beim Methanol-Fließmittel die einzelnen Phosphatflecken gleichmäßiger über die gesamte Laufstrecke verteilt als beim Isopropanol-Fließmittel (Lösungsmittel II nach Grunze u. Thilo[8]). Infolgedessen sind bei den kettenförmig gebauten Phosphaten (Polyphosphaten) die Abstände der einzelnen P_k-Werte untereinander ziemlich gleich. Daß beim Methanol-Fließmittel stärkere Verzögerungsschatten auftreten als beim Isopropanol-Fließmittel, ist für die qualitative Analyse von geringerer Bedeutung, wogegen es als Vorzug zu werten ist, daß die P_k-Werte der ringförmig gebauten Metaphosphate, also des Tri- und Tetrametaphosphats, sich beim Methanol-Fließmittel ausreichend von den P_k-Werten der benachbarten Polyphosphate unterscheiden, so daß sie neben diesen noch erkannt werden können.

a) Erforderliche Geräte. 1. Chromatographisches Papier Sch. & Sch. Nr. 2040b, gewaschen. 2. Metallschablone (siehe Abb. 2, S. 86). 3. Chromatographiergefäß: Zylindrisches Gefäß mit aufgeschliffenem, tubuliertem Deckel und flachem, der Tischebene parallelem Boden. Im Tubus durchbohrter Gummistopfen, der einen Glasstab in seiner genau senkrechten Lage hält, welcher als Träger für eine kreisrunde Holzscheibe dient (s. Abb. 3, S. 86). 4. Haltevorrichtung zum Trocknen und Besprühen der Papierbogen (s. Abb. 4, S. 86). 5. 2 Sprühvorrichtungen zum Ansprühen der Papierbogen: einfacher, mit Druckluft betriebener Injektor mit fein ausgezogener Glasspitze (s. Abb. 5, S. 87). 6. Ein elektrisches Heizöfchen 1000 Watt (oder Ultrarot-Flächenstrahler) zum Trocknen der aufgehängten Papierbogen. 7. Mikromeßpipette 0,05 ml in 1/100 0 ml unterteilt.

b) Lösungen. 1. Fließmittel, bestehend aus: 60 ml Methanol, reinst; 10,3 ml Trichloressigsäurelösung (100 g Trichloressigsäure auf 500 ml verdünnt und mit 22,7 ml Ammoniaklösung [D 0,918] versetzt); 5 ml Essigsäurelösung (20 ml 96%ige Essigsäure + 80 ml Wasser).

Die Zusammensetzung des wahlweise zu verwendenden Dioxan-Fließmittels wird weiter unten unter Bb mitgeteilt.

2. Sprühreagentien zur Sichtbarmachung der Zonen. I. Molybdatlösung: Lösung A: 20 g $(NH_4)_2SO_4$, gelöst in 160 ml Wasser und versetzt mit 60 ml konz. HNO_3 (D1,4); Lösung B: 60 g Ammoniummolybdat (4-Hydrat), gelöst in 160 ml Wasser von 50° C, Lösung abkühlen lassen und unter Rühren langsam in Lösung A gießen. II. Reduktionslösung: 28,8 g $Na_2S_2O_5$ (Natriummetabisulfit) wasserfrei, 1,05 g Na_2SO_3 wasserfrei, 0,21 g Photorex (Monomethyl-p-aminophenolsulfat) mit Wasser auf 100 ml auffüllen. (Bei Aufbewahrung im Dunkeln einige Monate brauchbar, für die Colorimetrie 1 Monat).

3. Testlösung. (Siehe Grunze u. Thilo[8], S. 9.)

c) Arbeitsvorschrift. Zunächst wird nach der Schablone (a 2) der Chromatogrammbogen ausgeschnitten, und zwar in der Weise, daß die Zacken in die Faserrichtung des Papiers zeigen. Die Breite des Papiers wird in folgender Weise bemessen: für eine grob orientierende Prüfung einer einzigen Substanz genügen 2 Zackenbreiten, wobei auf den einen Startpunkt die Untersuchungslösung, auf den andern die Testlösung aufgebracht wird. Für genauere Analysen ist es zweckmäßig, auf jeder Seite die äußersten Zacken freizulassen. Sollen also n qualitative Bestimmungen nebeneinander laufen, sind n + 3 Zackenbreiten notwendig. Das Freilassen der äußersten Zacken empfiehlt sich deshalb, weil sonst durch Randwirkungen die Testflecken deformiert werden in der Weise, daß die äußeren Partien der Flecken nach

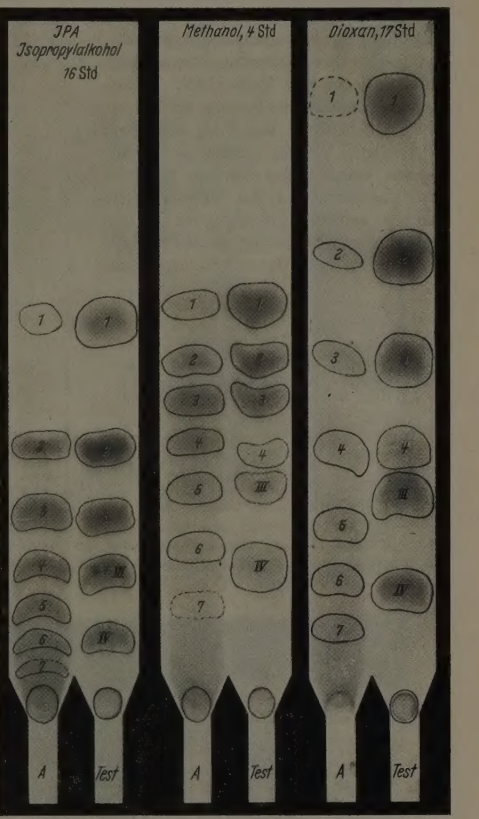


Abb. 1. Qualitative Chromatogramme mit verschiedenen Fließmitteln. Laufzeit bei Isopropanol und Dioxan 16 Std, bei Methanol 4 Std. *1, 2, 3* usw. = Ortho, Pyro, Tripoly usw. (Kettenförmige Polyphosphate) *III, IV* = Ringförmige Metaphosphate

unten gezogen werden, so daß u. U. eine klare Entscheidung nicht getroffen werden kann in solchen Fällen, wo zwei Testflecken sehr nahe zusammenliegen — insbesondere bei Anwesenheit ringförmiger Metaphosphate.

1 cm unter den oberen Zackenenden bzw. 5 cm über den unteren Zackenenden verläuft die Linie der Startpunkte, wobei die Startpunkte jeweils genau auf der Mittellinie ihres Zackens liegen müssen. Auf jeden dieser Startpunkte werden etwa 0,01 ml der Test- bzw. Untersuchungslösung aufgebracht, worin zwischen 0,01 und 0,1 mg P_2O_5 enthalten sein sollen. Bei zu großen P_2O_5-Einwaagen werden die Flecken zu groß und unscharf und die Trennung ist weniger exakt. Enthält eine Untersuchungslösung weniger als 0,1% P_2O_5 (= 1 mg im ml), dann können mehr-

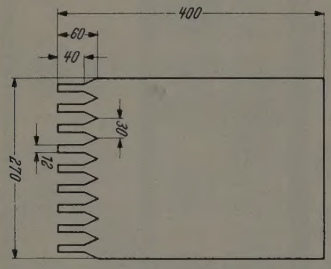


Abb. 2. Schablone zum Ausschneiden der Papierbogen

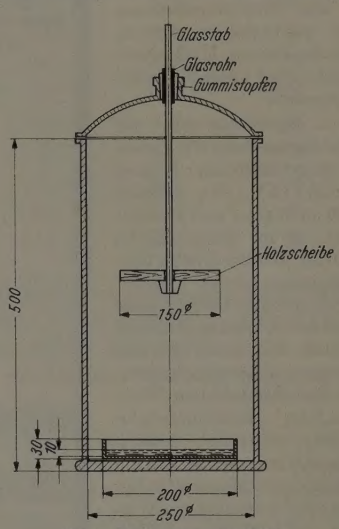


Abb. 3. Chromatographiergefäß

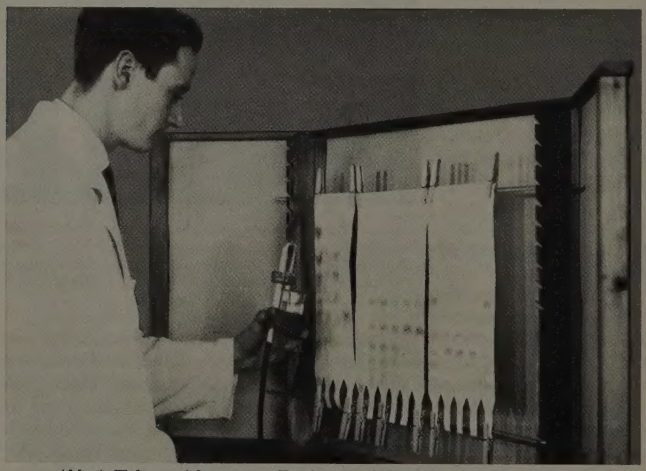


Abb. 4. Haltevorrichtung zum Trocknen und Besprühen der Papierbogen

mals auf denselben Startpunkt jeweils 0,01 ml Lösung — unter jedesmaliger Zwischentrocknung — aufgebracht werden, wobei allerdings u. U. schon eine gewisse Hydrolyse eintreten kann. Nun wird der Chromatogrammbogen an der kreisrunden Holzscheibe — am einfachsten mit Reißzwecken — so befestigt, daß der obere Rand des Bogens gerade mit dem oberen Rand der Holzscheibe abschneidet, so daß die Bogen genau senkrecht hängen. Die am Boden des Chromatographiergefäßes befindliche flache Schale (etwa 20 cm ⌀ und 3 cm Höhe) enthält das Fließmittel (b 1). Die Zacken sollen gleichmäßig etwa 3 mm in das Fließmittel eintauchen. Der Deckel des Gefäßes muß luftdicht abschließen. Die Raumtemperatur soll ungefähr bei 20° C liegen.

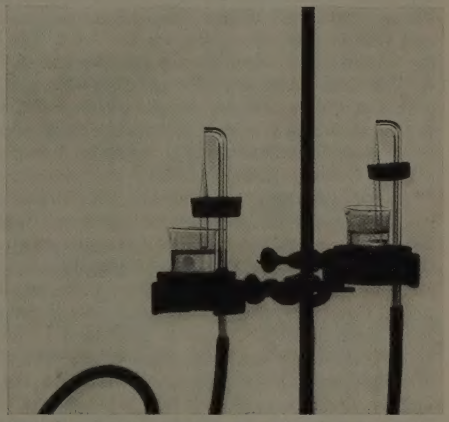


Abb. 5. Sprühvorrichtungen zum Ansprühen der Papierbogen. Die Bechergläschen sitzen in einer Vertiefung eines großen Korkstopfens, der gleichzeitig zur Halterung der eigentlichen Sprühvorrichtung dient

Nach 4 Std wird der Bogen herausgenommen, an der Haltevorrichtung befestigt und mit dem Heizöfchen getrocknet. Hierauf wird der Bogen mit Molybdatlösung (b 2 I) gleichmäßig fein besprüht (s. Abb. 4), wofür die in Abb. 5 gezeigte Sprühvorrichtung (5 a) empfohlen wird, die in jedem Laboratorium selbst angefertigt werden kann. Die einzelnen Phosphate werden dabei bereits in Form gelber Flecken sichtbar. Die Sprühvorrichtung hat den Vorteil, daß das Auftreffen größerer Tröpfchen auf das Papier vermieden werden kann. Die Verwendung von Druckluft ist dabei vorteilhaft.

Nach dieser ersten Besprühung wird getrocknet und anschließend mit der Reduktionslösung (b 2 II) besprüht, wobei eine zweite Sprühvorrichtung nach 5a Verwendung findet. Die so entstandenen blauen Phosphatflecken sind nach abermaliger Trocknung besonders gegen Licht betrachtet auch bei Anwesenheit sehr geringer P_2O_5-Mengen noch gut zu erkennen.

Es ist zweckmäßig, das Fließmittel vor Gebrauch über Nacht im geschlossenen Chromatographiergefäß offen stehen zu lassen, damit sich die Luft mit den Lösungsmitteldämpfen sättigt. Das Fließmittel kann mehrere Tage lang benutzt werden.

d) *Anmerkungen.* Die untere Nachweisgrenze beträgt 1 μg P_2O_5 auf den einzelnen Phosphatfleck gerechnet, d. h., die aufgetragene Lösung muß von jedem einzelnen nachzuweisenden Phosphat wenigstens 0,1 mg (als P_2O_5 gerechnet) im ml enthalten, um beim einmaligen Auftrag von 0,01 ml das betreffende Phosphat gerade noch erkennen zu können.

B. Quantitative Papierchromatographie

a) Erforderliche Geräte (außer den unter A a bereits genannten): 8. 10 Erlenmeyer-Kolben 100 ml mit Normalschliffvollglasstopfen (Hohlglasstopfen sind zu

leicht). 9. Vollpipetten 1, 2, 25 und 50 ml, oder autom. Bürette. 10. 10 Meßkolben 100 ml mit Normalschliffstopfen. 11. Analysentrichter, Bechergläser 50 ml, Meßzylinder 25 ml, Bürette. 12. Rundfilter 11 cm, phosphatfrei, Weißband Schl. & Sch. 589/1. 13. Colorimeter mit Zubehör.

b) Erforderliche Lösungen (außer den unter A b genannten): 1. Fließmittel, bestehend aus: 30 ml Dioxan, 26,25 ml Isopropanol, 15,6 ml Trichloressigsäurelösung (20 g CCl_3COOH DAB 6, krist. + 5,5 ml Ammoniaklösung [D 0,918] mit dest. Wasser auf 100 ml gefüllt), 3 ml Essigsäure (20 ml 96%ige Essigsäure + 80 ml Wasser), 13,75 ml Wasser. 2. Sprühreagentien zur Sichtbarmachung der Zonen und Colorimetrie. Dieselben wie bei A b 2. Die Reduktionslösung dient auch für die Colorimetrie nach Scheel-Lederle. 3. Testlösung: siehe unter A b 3. 4. Natriumacetatlösung: 75 g $CH_3COONa \cdot 3\ H_2O$ p. a. in 2 l dest. Wasser gelöst. 5. Colorimetrische Molybdatlösung: 48,75 g NH_4-Molybdat-4 Hydrat p. a. werden in 400 ml Wasser von etwa 40—50° C gelöst. Nach dem Abkühlen wird eine kalte verd. Schwefelsäure (131 ml konz. Schwefelsäure in 250 ml H_2O) eingerührt und das Ganze auf 1 l aufgefüllt.

c) Arbeitsvorschrift. Der Gesamt-P_2O_5-Gehalt der Untersuchungssubstanz wird zweckmäßigerweise schon vorher bestimmt, und zwar zur Bemessung der Einwaage und zur Kontrolle des chromatographisch gewonnenen Gesamtwerts.

In der zu colorimetrierenden Endlösung darf 0,4 mg P_2O_5/100 ml nicht überschritten werden. Die Einwaage beträgt zweckmäßigerweise 0,5—2 g P_2O_5 je 100 ml. Bei zu hoher Einwaage ist die Gefahr des Verschmierens, d. h. des Auftretens von Verzögerungsschatten, gegeben. Besteht das Phosphat größtenteils aus hochmolekularen Bestandteilen, dann kann die Einwaage größer genommen werden, da ja der Hauptanteil auf der Startlinie verbleibt. Bei der Aufarbeitung der hochmolekularen Fraktion muß dann ein entsprechend kleinerer Teil der Lösung für die Colorimetrie verwendet werden. Auch bei Phosphaten, die sich aus mehreren Komponenten zusammensetzen, darf die Einwaage nicht zu niedrig sein, um für die einzelnen Phosphatfraktionen noch eine genügende Menge von P_2O_5 zur Colorimetrie zu bringen. Aus diesen Gründen ist die vorherige Anfertigung eines qualitativen Chromatogramms von Vorteil, wozu ein Schnellchromatogramm mit dem Methanol-Fließmittel genügt.

Der Chromatogrammbogen wird nach der in Abb. 2 dargestellten Schablone geschnitten. Auf die Startpunkte (Näheres siehe unter A c) 2—6, von links gerechnet, kommen insgesamt genau 0,05 ml Analysenlösung, d. h. je Zapfen etwa 0,01 ml. Auf Startpunkt 8 werden ebenfalls etwa 0,01 ml Analysenlösung gebracht, während der Startpunkt 9 für 0,01 ml Testlösung vorbehalten ist. Die Startpunkte 1 und 7 bleiben demnach frei.

Das Befestigen des Bogens an der Holzscheibe, das Einhängen in das Fließmittel, Herausnehmen und Trocknen geschieht wie bei der qualitativen Analyse (siehe unter A c). Die normale Laufzeit beträgt 16 Std, d. h. üblicherweise die Nacht hindurch. Nun wird ein 75 cm breiter Streifen des Bogens in der Laufrichtung des Papiers abgeschnitten, der die Bahnen 8 und 9 enthält, wobei der Schnitt den Zapfen 7 in der Längsrichtung teilt. Dieser schmalere Teil des Bogens wird nun wie bei der qualitativen Analyse durch Aufsprühen von Molybdat- und Reduktionslösung entwickelt.

Nach Lage der Flecken auf diesem Orientierungsstreifen wird der getrocknete Restbogen durch waagrechte Bleistiftstriche zwischen den einzelnen Phosphatzonen unterteilt, durchgeschnitten und die einzelnen Querstreifen werden in kleine Stückchen geschnipfelt. Diese werden jeweils mit der Pinzette quantitativ in ein 100 ml-Erlenmeyerkölbchen mit Normalschliffstopfen übergeführt. In jedes Kölbchen werden 50 ml 1 n Schwefelsäure zugesetzt und nach Aufsetzen des Stopfens

werden die Kölbchen über Nacht im Trockenschrank bei 90° C gehalten. Dabei werden nach Ablauf der ersten halben Stunde die Kölbchen kurz umgeschwenkt, damit die Schnitzel zu Boden sinken und die Luftbläschen verschwinden.

Diejenige Fraktion, welche die an der Startlinie sitzengebliebenen Anteile enthält, wird anders behandelt: An Stelle des Glasstopfens wird ein Normalschliffkühler (Weite 12—13 cm, Mantellänge 20 cm) aufgesetzt und 2 Std am Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wird der Kölbcheninhalt samt Kühler unter Verschluß des offenen Kühlerendes umgeschwenkt, um die im Kühler hängenden Tropfen in das Kölbchen zurückzuholen und eine gleichmäßige Konzentration herzustellen.

Aus sämtlichen Kölbchen wird dann nach dem Erkalten und Umschwenken der Inhalt filtriert und 25 ml dieses Filtrats werden in einen 100 ml-Meßkolben übergeführt. Dann werden 12,3 ml 2 n Natronlauge, sowie 10 ml Wasser zugegeben und wiederum abgekühlt. Schließlich wird mit 1 ml Reduktionslösung und — nach Umschütteln — mit 2 ml Molybdatlösung B b 5 versetzt, worauf sich innerhalb 35 min das Maximum der Molybdänblaufärbung einstellt. Die Farbreaktion wird nunmehr durch Auffüllen des Kölbchens mit der Natriumacetatlösung auf 100 ml abgestoppt und sofort oder spätestens innerhalb einer Stunde colorimetriert.

Es wird dazu das Weka-Colorimeter nach Havemann verwendet mit der 3 cm-Küvette und folgender Filteranordnung: OG2/Hg-Dampflampe/VG3/Probe/OG2, OG2.

Fehlerquellen. Wesentlichste Voraussetzung für die Erzielung brauchbarer Resultate ist vor allem peinlichste Sauberkeit. Die Lagerung und Handhabung des chromatographischen Papiers, die Chromatographie selbst und das nachfolgende Trocknen und Schneiden muß unter völliger Ausschaltung von phosphathaltigen Verunreinigungen erfolgen. Der Raum muß frei sein von phosphathaltigem Staub und soll möglichst nur dieser Chromatographie dienen. Das destillierte Wasser und die Reagentien, sowie Anzug und Hände des Analytikers müssen weitgehend phosphatfrei sein. Auf die Sauberkeit der Geräte ist besonders zu achten. Unter Wahrung dieser Voraussetzungen gelingt es, auch im Dauerbetrieb den Blindwert praktisch gleich Null zu halten, was für genauere Analysen auf jeden Fall gefordert werden muß. An jedem Tage, an dem Bestimmungen durchgeführt werden, ist zugleich eine Blindwertsbestimmung auszuführen.

Die exakte und vorschriftsmäßige Aufbringung der Untersuchungslösung auf die Startpunkte, das genau senkrechte Einhängen der Bogen in das Fließmittel, der luftdichte Abschluß des Chromatographiergefäßes und eine ausreichende Konstanz der Raumtemperatur (etwa 18—22° C) sind weitere Voraussetzungen für den Erfolg. Das Fließmittel kann mehrmals, jedoch nicht häufiger als 7—8mal, verwendet werden. Es ist zweckmäßig, vor Beginn der ersten Analyse das Fließmittel schon eine Nacht über im Chromatographiergefäß stehen zu lassen, damit sich die Luft mit den Dämpfen sättigt. Der erste Lauf wird normalerweise für ein qualitatives Chromatogramm verwendet, da erst vom zweiten Lauf ab die R_f-Werte genügend konstant bleiben.

Das papierchromatographische Verfahren ist gegen Störungen durch Fremdionen verhältnismäßig wenig anfällig. Am meisten stört nach unseren bisherigen Erfahrungen im Überschuß anwesendes Sulfat, das insbesondere bei den besonders häufig vorkommenden Phosphatbestimmungen in Wasch- und Reinigungsmitteln meist zugegen ist. So wird z. B. der Pyrophosphatfleck bei Gegenwart von größeren Sulfatmengen

Tabelle 2

Testlösung 1

	berechnet		gefunden					
	mg P_2O_5	% P_2O_5	mg P_2O_5	% P_2O_5	mg P_2O_5	% P_2O_5	mg P_2O_5	% P_2O_5
Orthophosphat	0,0550	11,0	0,0575	11,5	0,0630	12,5	0,054	10,9
Pyrophosphat	0,2110	42,2	0,2090	41,8	0,2045	40,7	0,2025	40,7
Tri(poly)phosphat	0,2340	46,8	0,2330	46,7	0,2360	46,8	0,2410	48,4

Testlösung 2

	berechnet		gefunden					
	mg P_2O_5	% P_2O_5	mg P_2O_5	% P_2O_5	mg P_2O_5	% P_2O_5	mg P_2O_5	% P_2O_5
Orthophosphat	0,0330	6,6	0,0325	6,4	0,0375	7,35	0,0310	6,3
Pyrophosphat	0,1340	26,8	0,1380	27,0	0,1345	26,5	0,1320	26,8
Tri(poly)phosphat	0,2070	41,4	0,2090	40,9	0,2040	40,05	0,2020	41,1
Tetra(poly)phosphat	0,1260	25,2	0,1310	25,7	0,1330	26,1	0,1270	25,8

Testlösung 3

	berechnet		gefunden					
	mg P_2O_5	% P_2O_5	mg P_2O_5	% P_2O_5	mg P_2O_5	% P_2O_5	mg P_2P_5	% P_2O_5
Orthophosphat	0,0052	1,0	0,0050	1,0	0,0030	0,6	0,0028	0,6
Pyrophosphat	0,0610	12,2	0,0615	12,5	0,0525	11,2	0,0600	12,4
Tri(poly)phosphat	0,1890	37,8	0,1750	35,6	0,1690	35,8	0,1875	38,8
Trimeta + Tetrametaphosphat	0,0238	4,8	0,0275	5,6	0,0280	5,9	0,0250	5,2
Kettenlängen > 9	0,2210	44,2	0,2220	45,2	0,2200	46,5	0,2075	43,0

winkelförmig nach unten gezogen, wobei auch gelegentlich eine Teilung des Fleckens in zwei übereinanderliegende Streifen eintritt und ein exaktes Schneiden nicht mehr möglich ist. Beträgt die Sulfatmenge jedoch nicht mehr als das fünffache der Phosphatmenge, dann ist die quantitative Trennung noch ohne Schwierigkeiten möglich. So wurden z. B. Chromatogramme durchgeführt mit 4 mg Phosphat und 20 mg Sulfat im ml, und zwar mit und ohne Zusatz von 10 mg Alkylarylsulfonat. Auch in Gegenwart von Silicat und anderen Waschmittelbestandteilen, soweit sie in den üblichen Mengen zugegen waren, wurden bei größeren Phosphatgehalten keine Störungen beobachtet.

Sind die Phosphatgehalte jedoch besonders niedrig, dann können die obengenannten Erscheinungen eintreten. Man stellt sie bei der vorhergehenden qualitativen Chromatographie bereits fest und hilft sich dann so, daß man die Gesamtkonzentration niedriger hält, wobei dann allerdings auch die zur Colorimetrie kommende P_2O_5-Menge entsprechend kleiner ist, was die Fehlergrenze im selben Maße erhöht. Es lassen sich jedoch auch dann noch Analysen durchführen, die eine für technische Anwendungszwecke ausreichende Genauigkeit aufweisen.

Bei der Untersuchung von Lösungen bekannter Zusammensetzung wurden die in der Tab. 2 (S. 90) zusammengefaßten Werte gefunden. Es wurden dabei die auch als Testsubstanzen dienenden Phosphate verwendet (siehe weiter oben), die in genügender Reinheit vorlagen. Die chromatographisch gefundenen Verunreinigungen durch andere Phosphate wurden bei der Zusammensetzung der eingewogenen Testlösungen berücksichtigt. Die Gesamt-P_2O_5-Werte der Testlösungen wurden gravimetrisch nachgeprüft und stimmten mit den berechneten überein. Es wurden jeweils 0,5 mg P_2O_5 eingewogen. Die gefundenen Werte stammen von drei verschiedenen Analytikern.

Zusammenfassung

Es wird ein Überblick über die Entwicklung der qualitativen und quantitativen Papierchromatographie der Phosphate gegeben. Zwei neue Fließmittel, das „Methanol"- und das „Dioxan"-Fließmittel, werden beschrieben, von denen das erste besonders für die rasche Durchführung qualitativer Analysen empfohlen wird. Schließlich werden genaue Anwendungsvorschriften auf Grund eigener langjähriger Erfahrungen mitgeteilt.

Außer dem bereits genannten Herrn Dr. Kubens hat sich in den letzten Jahren besonders Herr Alfred Goertz um die Ausarbeitung des Verfahrens verdient gemacht.

Literatur

[1] Ando, T., J. Ito, S. Ishii und T. Soda: Bull. chem. Soc. Japan **25**, 78 (1952). — [2] Crowther, J.: Analyt. Chemistry **26**, 1383 (1954); vgl. diese Z. **149**, 283 (1956). — [3] Crowther, J.: Nature (London) **173**, 486 (1954); vgl diese Z. **149**, 283 (1956). — [4] Ebel, J.-P.: C. R. Acad. Sci. **234**, 621 (1952). — [5] Ebel, J.-P.: Mémoires Présentés à la Société Chimique (1953), 991. — [6] Ebel, J.-P., und Y. Volmar: C. R. Acad. Sci. **233**, 415 (1951); vgl. diese Z. **136**, 290 (1952). — [7] Gerritsma, K. W., u. J. C. Frederiks: Chem. Weekbl. **51**, 197 (1955); vgl. diese Z. **149**, 287 (1956). — [8] Grunze, H., u. E. Thilo: S.-B. dtsch. Akad. Wiss. Berlin, math.-naturwiss. Kl. 1. Aufl. **1953**, Nr. 5,3; vgl diese Z. **149**, 281 (1956). — [9] Karl-Kroupa, E.: Analyt. Chemistry **28**, 1091 (1956); vgl. diese Z. **155**, 371 (1957). — [10] Köberlein, W., u. H. Mair-Waldburg: Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **102**, 231 (1955); vgl. diese Z. **150**, 391 (1956). — [11] Lederle, P.: diese Z. **121**, 403 (1941). — [12] Reindel, F., u. W. Hoppe: Naturwissenschaften **40**, 245 (1953); vgl. diese Z. **141**, 134

(1954). — [13] Westman, A. E. R., and A. E. Scott: Nature (London) **68**, 740 (1951). — [14] Westman, A. E. R., A. E. Scott and J. T. Pedley: Chemistry in Canada **4**, 189 (1952); vgl. diese Z. **149**, 283 (1956). — [15] Wieker, W.: S.-B. dtsch. Akad. Wiss. Berlin, math.-naturwiss. Kl. 2. Aufl. 1955, Nr. 5, 3; vgl. diese Z. **149**, 282 (1956).

Dr. Otto Pfrengle,
Wissenschaftliche Abt. der Chemischen Fabrik Budenheim A.G., Mainz

---

Aus dem Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie Dortmund-Aplerbeck in Zusammenarbeit mit der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster

Papierchromatographische Kationentrennungen. II*

Das chromatographische Verhalten von Metallchloriden im Laufmittelsystem Tetrahydrofuran-Wasser-Chlorwasserstoff[1]

Von
H. Hartkamp und H. Specker

Mit 13 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. April 1957)

Vor einiger Zeit berichteten wir über die papierchromatographische Trennung der Erdalkalien im Laufmittelsystem Tetrahydrofuran-Wasser-Chlorwasserstoff[2]. Das gleiche Laufmittelsystem benutzten wir zur Prüfung des chromatographischen Verhaltens zahlreicher anderer Metallionen. Diese Untersuchungen sollten einerseits neue analytische Möglichkeiten eröffnen. Vor allem aber sollten sie Auskünfte allgemeiner Natur über die bei der Papierchromatographie anorganischer Substanzen wirksamen Transportmechanismen vermitteln. Die Kenntnis dieser Transportmechanismen gestattet, die Zusammensetzung der Laufmittel ohne langwierige Vorprüfung den jeweiligen analytischen Aufgaben anzupassen. Sie erlaubt auch, das chromatographische Verhalten der Metallionen zu ihrem Verhalten in organischen Lösungsmitteln, bei Extraktionsreaktionen und bei Austausch- und Adsorptionsgleichgewichten in Beziehung zu setzen, so daß die Papierchromatographie auch in diesen Arbeitsgebieten zur Entwicklung neuer Verfahren und zum tieferen Verständnis der schon bekannten Methoden beitragen kann.

Es erschien deshalb zweckmäßig, die Zusammensetzungen der Laufmittel aus dem eingangs genannten System innerhalb möglichst weiter Grenzen zu variieren. Die 3 Komponenten des Systems sind — soweit

* I. Mitt. diese Z. **152**, 107 (1956).

dies untersucht wurde — in jedem Verhältnis miteinander mischbar. Gleichwohl ist nur ein verhältnismäßig kleiner Ausschnitt aus dem gesamten Dreistoffsystem für papierchromatographische Analysen brauchbar. Die in diesem Ausschnitt liegenden, von uns benutzten Laufmittelzusammensetzungen sind in der Abb. 1 dargestellt. Die Abb. 1 enthält außerdem Angaben über die Zusammensetzung einiger

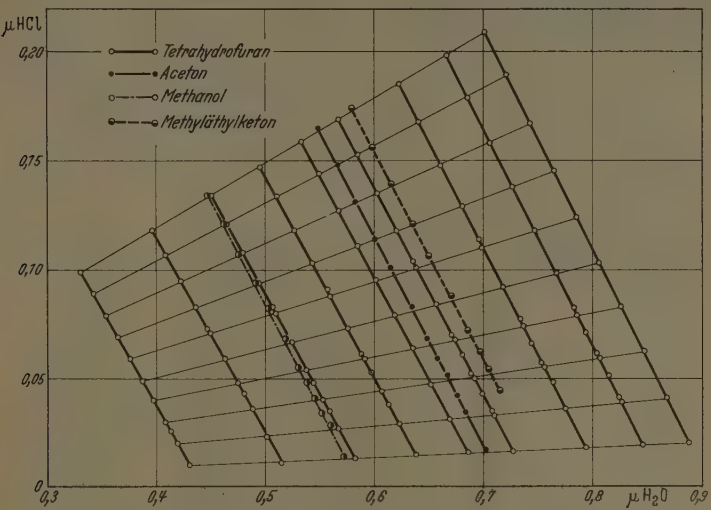


Abb. 1. Zusammensetzung der Laufmittel (Konzentrationsangaben in Molenbrüchen μ)

anderer Laufmittel, die Methanol, Aceton oder Methyläthylketon (2-Butanon) an Stelle von Tetrahydrofuran enthalten*.

Bei sehr hohen Wassergehalten in den Laufmitteln ($>$ 90 Mol-% H_2O) sind im allgemeinen keine brauchbaren Trenneffekte zu beobachten. Chlorwasserstoff in hohen Konzentrationen greift das Papier in kurzer Zeit so sehr an, daß es beim Trocknen brüchig wird und nicht mehr zu handhaben ist; stark salzsaure Laufmittel steigen überdies nur langsam auf. Laufmittel mit großen Tetrahydrofurangehalten scheiden für analytische Zwecke aus, weil sie sich — auch nach vielstündiger Sättigung der Papiere mit den Laufmitteldämpfen — während der Laufzeit so sehr entmischen, daß die Meßwerte nicht mehr reproduzierbar sind. Diese durch die Cellulosefasern hervorgerufene Entmischung läßt im Chromatogramm eine zweite Flüssigkeitsfront auftreten, deren

* Über vergleichende Untersuchungen mit diesen Laufmitteln siehe III. Mitteilung (im Druck).

Wanderungsgeschwindigkeit und Lage, gemessen an ihrem auf die erste Front bezogenen „R_f-Wert", stark von den Arbeitsbedingungen, insbesondere von der Laufmittelzusammensetzung abhängt. Bei Laufmitteln, deren organischer Anteil aliphatische Alkohole sind, ist die Entmischung im allgemeinen weniger ausgeprägt und die zweite Front weniger scharf begrenzt als in Laufmitteln mit Ketonen oder Äthern. Für das System Tetrahydrofuran-Wasser-Chlorwasserstoff gibt die Tab. 1 Auskunft über die Entmischungsgrenzen.

Tabelle 1. *„R_f-Werte" der zweiten Flüssigkeitsfront in Chromatogrammen mit Tetrahydrofuran + wäßriger Salzsäure auf Schl. & Sch.-Papier Nr. 2040b.* Aufsteigendes Verfahren, Steighöhe der ersten Front: 150 ± 10 mm

Normalität der zugesetzten wäßrigen Salzsäure	1,22	2,47	6,21	9,90
Vol-% wäßrige Salzsäure im Laufmittel	„R_f-Werte" der zweiten Front			
10	0,28	0,33	0,50	0,55
15	0,48	0,55	0,70	0,69
20	0,70	0,72	0,82	0,82
25	0,83	0,83	0,92	0,96
30	0,90	0,88	0,95	0,98
35	0,93	0,92	0,98	1,00
40	0,95	0,96	0,99	1,00
50	0,98	1,00	1,00	1,00
60	1,00	1,00	1,00	1,00
70	1,00	1,00	1,00	1,00

Die Tabellenwerte sind mit Unsicherheiten von 0,02—0,04 behaftet. Die ihnen zugrunde liegenden Messungen sind unter den gleichen standardisierten Bedingungen angestellt, die wir schon bei der Trennung der Erdalkalien angewandt haben[2]. Diese Bedingungen sind auch bei den nachstehend beschriebenen Untersuchungen eingehalten.

Mit dem Auftreten einer zweiten Front, also mit der Laufmittelentmischung, sind die Fleckenformen der chromatographierten Substanzen eng verknüpft, so wie es in der Abb. 2 schematisch dargestellt ist. Verzerrungen der Fleckenformen, die bei einigen Substanzen durch Hydrolyse in ungenügend sauren Laufmitteln verursacht werden, bleiben in dieser Darstellung unberücksichtigt.

Man erkennt aus der Abb. 2 unmittelbar, daß die zweite Flüssigkeitsfront — sie wird in der Literatur gelegentlich als „Wasserfront" oder „Säurefront" bezeichnet[3] — eine Unstetigkeitsstelle im Chromatogramm ist, die zwei völlig verschiedene Verteilungssysteme voneinander trennt. Dafür spricht auch die schon mehrfach beschriebene Beobachtung, daß beim Trocknen der Chromatogramme die Flüssigkeit im

Bereich zwischen der ersten und der zweiten Front sehr viel rascher verdunstet als die im Bereich zwischen der zweiten Front und der Startlinie. Eine scharf ausgeprägte zweite Front tritt nur auf, wenn der organische Anteil im Laufmittel überwiegt und der Chlorwasserstoffgehalt klein ist.

Es erscheint somit unzulässig, die Laufmittelentmischung unbeachtet zu lassen und die R_f-Werte der chromatographierten Substanzen auf die erste Front zu beziehen, als wäre das Chromatogramm ein einheitliches Ganzes. Soweit bei den nachstehend beschriebenen systematischen

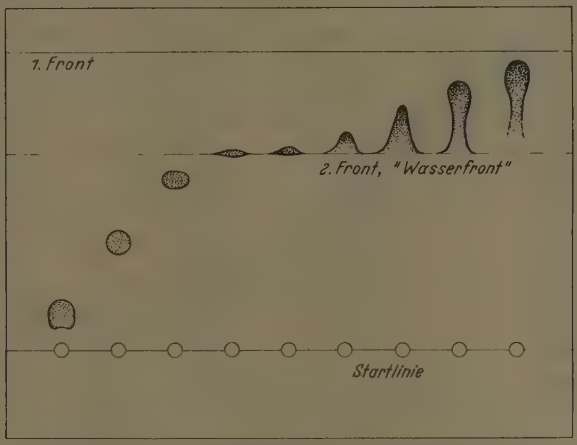


Abb. 2. Fleckenformen in Chromatogrammen mit Laufmittelentmischung

Untersuchungen die Laufmittel sich entmischen, sind die R_f-Werte auf die zweite Front, die Wasserfront, bezogen. Streng genommen müßten den Substanzflecken, die auf oder oberhalb dieser Front liegen, R_f-Werte $\geqq 1$ zugeordnet werden. Wegen der schlechten Reproduzierbarkeit im Gebiet zwischen beiden Fronten und wegen der großen Ausdehnung der Flecken ist aber darauf verzichtet worden; vielmehr ist in solchen Fällen stets $R_f = 1$ gesetzt worden.

Es ist für einige Laufmittel nachgewiesen[4] und für das vorliegende System wahrscheinlich, daß auch in Chromatogrammen ohne Laufmittelentmischung die Zusammensetzung und Dicke der aufsteigenden Flüssigkeitsschicht nicht gleichmäßig ist — Entsprechendes gilt bei entmischten Laufmitteln für den Bereich unterhalb der zweiten Front —, so daß man mit einer Abhängigkeit der R_f-Werte von der Steighöhe der Front rechnen muß. Über eine einfache Methode, diese Abhängigkeit zu bestimmen, wird später berichtet werden.

Der Einfluß der Laufmittelentmischung, der Steighöhe usw. auf die R_f-Werte läßt sich durch geeignete Standardisierung der Arbeitsbedingungen weitgehend eliminieren. Unter solchen Standardbedingungen[2] wurden zunächst die R_f-Werte einer größeren Anzahl von Metallionen in einem Laufmittel aus 50 Volumenteilen Tetrahydrofuran und 15 Volumenteilen konzentrierter Salzsäure (D 1,19) auf Schl. & Sch.-Papier Nr. 2043b im aufsteigenden Chromatogramm ermittelt. Von den einzelnen Kationen, deren Salze in 2n Salzsäure gelöst waren, benutzten wir für jedes Chromatogramm jeweils etwa 1—2 μg. Die Werte der nachstehenden Tab. 2 sind Mittelwerte aus 5—60 Einzelmessungen.

Tabelle 2. *R_f-Werte in einem Laufmittel aus 50 Vol-Tln. Tetrahydrofuran und 15 Vol-Tln. konz. Salzsäure auf Schl. & Sch. Nr. 2043b.* Aufsteigendes Verfahren

Me	R_f	Me	R_f
Ba^{2-}	0,00	Cu^{2+}	0,90
Sr^{2+}	0,099	UO_2^{2+}	0,98
Ca^{2+}	0,20	Zn^{2+}	1,00
Ni^{2+}	0,28	Cd^{2+}	1,00
Mg^{2+}	0,34	Hg^{2+}	1,00
Al^{3+}	0,35	Ga^{3+}	1,00
Cr^{3+}	0,44	In^{3+}	1,00
Ti^{4+}	0,44	Sn^{2+}	1,00
Mn^{2+}	0,50	As^{3+}	1,00
VO_3^-	0,55	Sb^{3+}	1,00
Be^{2+}	0,61	Bi^{3+}	1,00
SeO_3^{2-}	0,76	MoO_4^{2-}	1,00
Co^{2+}	0,78	Fe^{3+}	1,00

Von den vorgeprüften Elementen wurden Magnesium, Calcium, Kupfer, Zink, Cadmium, Aluminium, Gallium, Mangan, Eisen, Kobalt und Nickel für die weiteren Untersuchungen ausgewählt. Von diesen Elementen wurden je 4—8 Chromatogramme mit sämtlichen in der Abb. 1 verzeichneten Laufmitteln hergestellt. Dazu wurde das Papier Schl. & Sch. Nr. 2040b benutzt. Eine grundsätzliche Änderung der R_f-Sequenzen war hierbei gegenüber dem Papier Nr. 2043b nicht zu erwarten, wenn auch die mittleren R_f-Werte leicht verschoben wurden. Weil aber die R_f-Werte auf dem Papier Nr. 2040b bei viel geringerer Laufzeit der Chromatogramme mit gleicher statistischer Sicherheit gemessen werden konnten wie auf dem Papier Nr. 2043b — dies ergab sich aus entsprechenden Untersuchungen mit den Elementen Kupfer, Kobalt, Mangan und Nickel —, bevorzugten wir die erstgenannte Papiersorte für die weiteren Untersuchungen. Die aus den Chromatogrammen gewonnenen mittleren R_f-Werte der obengenannten 11 Elemente sind in den Abb. 3—13 (S. 97—102) in Abhängigkeit von der Laufmittelzusammensetzung dargestellt. Als Abszissenmaßstab und Kurvenpara-

meter benutzen wir — wie bei den Untersuchungen über die Erdalkalien — die molaren Konzentrationen der einzelnen Laufmittelkomponenten (Molenbruch $\mu \cdot 100$ = Mol-%). In den Abbildungen treten unmittelbar nur die molare Wasserkonzentration (μH_2O) im Laufmittel als Abzisse und die molare Tetrahydrofurankonzentration (μTHF) als Kurvenparameter auf. Die Gehalte der jeweiligen Laufmittel an Chlorwasserstoff ergeben sich dann als Differenz: $\mu HCl = 1 - (\mu H_2O + \mu THF)$.

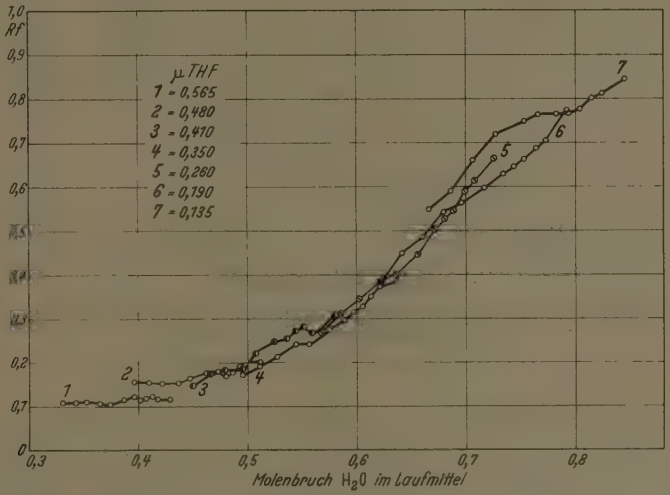


Abb. 3. R_f-Werte von Magnesium im System Tetrahydrofuran/H_2O/HCl als Funktion des H_2O- und des Tetrahydrofurangehaltes

Den Abbildungen sei eine Zusammenfassung der Meßbedingungen vorangestellt:

Steiggefäße: Evakuierbare Gläser, 10 · 25 cm, Papier: Schl. & Sch. Nr. 2040b, 24 · 25 cm, Steighöhe: 150 ± 10 mm, Substanzmengen: je 1—2 μg, Identifizierung der Flecken: 1%ige Oxychinolinlösung im Methanol, NH_3, UV-Analysenlampe, Temperatur: Zimmertemperatur. Die Konzentrationen sind in den Abbildungen in Molenbrüchen μ angegeben.

Die Abbildungen 3—13 lassen 4 Typen von R_f-Funktionen erkennen. Den ersten Typ repräsentieren die Elemente Calcium, Magnesium, Aluminium und Nickel, den zweiten die Elemente Kupfer, Kobalt und Mangan. Zur dritten und vierten Gruppe gehören Cadmium und Zink bzw. Eisen und Gallium. Diese 4 Elemente lassen sich unter den hier beschriebenen Bedingungen praktisch nicht voneinander trennen, wohl aber von sämtlichen Elementen der beiden ersten Gruppen. Diese können auch voneinander getrennt werden, am besten die Elemente

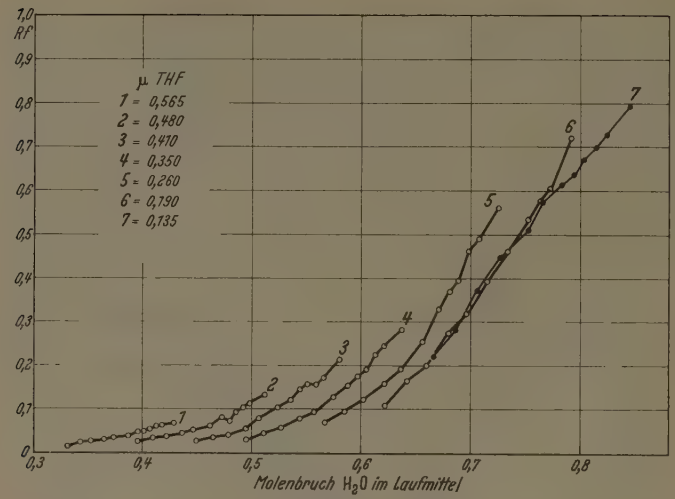


Abb. 4. R_f-Werte von Calcium im System Tetrahydrofuran/H_2O/HCl als Funktion des H_2O- und des Tetrahydrofurongehaltes

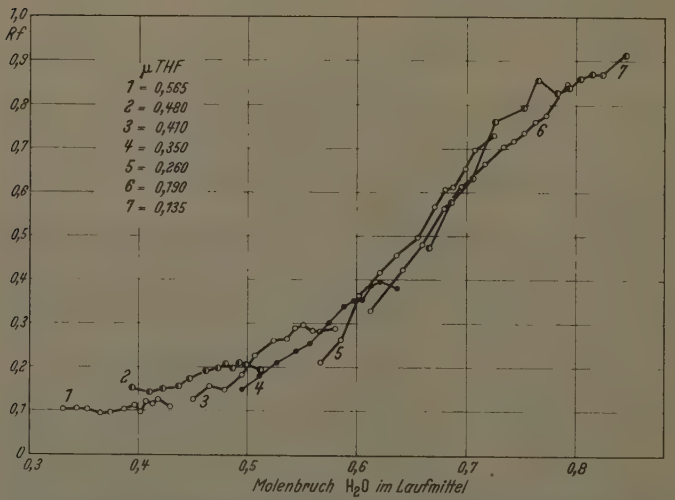


Abb. 5. R_f-Werte von Aluminium im System Tetrahydrofuron/H_2O/HCl als Funktion des H_2O- und des Tetrahydrofurangehaltes

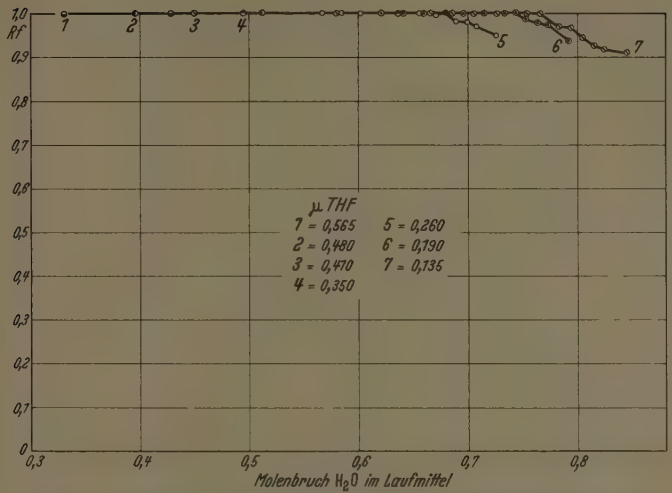


Abb. 6. R_f-Werte von Gallium im System Tetrahydrofuran/H_2O/HCl als Funktion des H_2O- und des Tetrahydrofurangehaltes

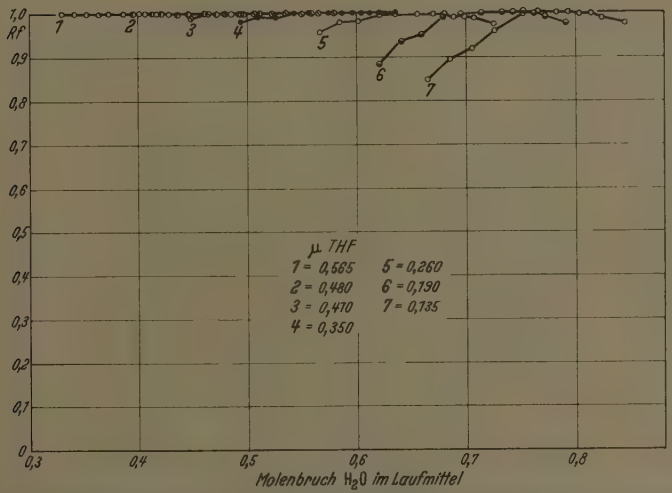


Abb. 7. R_f-Werte von Zink im System Tetrahydrofuran/H_2O/HCl als Funktion des H_2O- und des Tetrahydrofurangehaltes

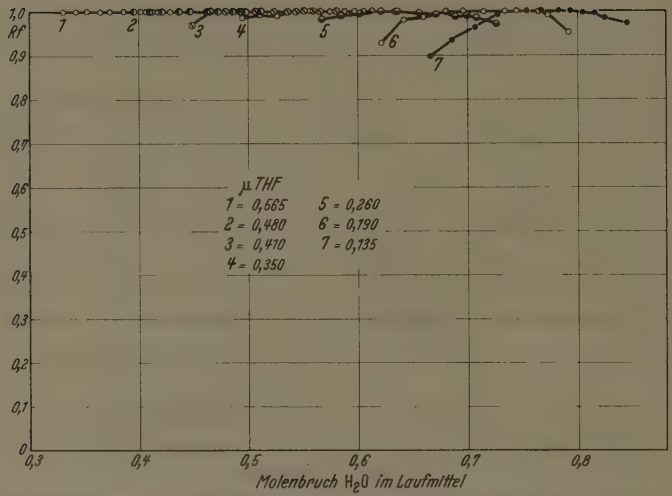


Abb. 8. R_f-Werte von Cadmium im System Tetrahydrofuran/H_2O/HCl als Funktion des H_2O- und des Tetrahydrofurangehaltes

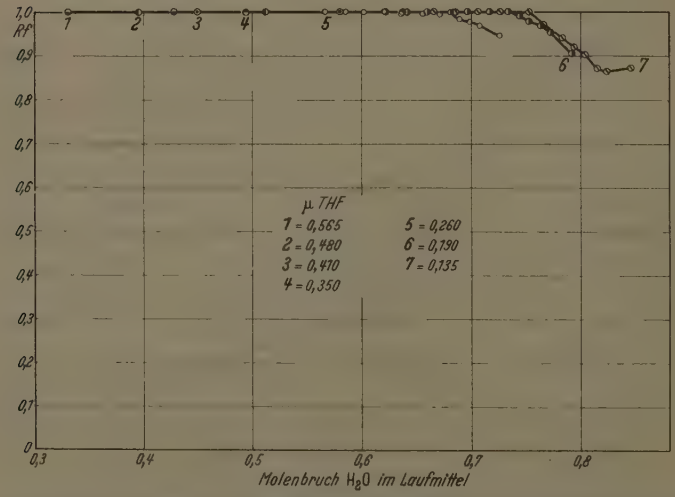


Abb. 9. R_f-Werte von Eisen(III) im System Tetrahydrofuran/H_2O/HCl als Funktion des H_2O- und des Tetrahydrofurangehaltes

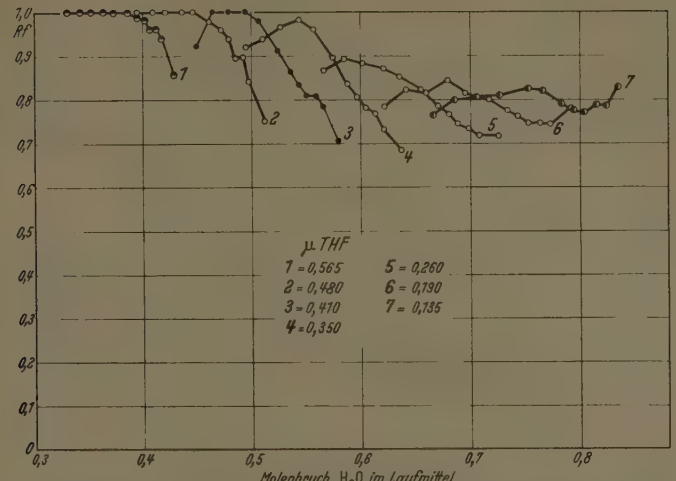


Abb. 10. R_f-Werte von Kupfer im System Tetrahydrofuran/H_2O/HCl als Funktion des H_2O- und des Tetrahydrofurangehaltes

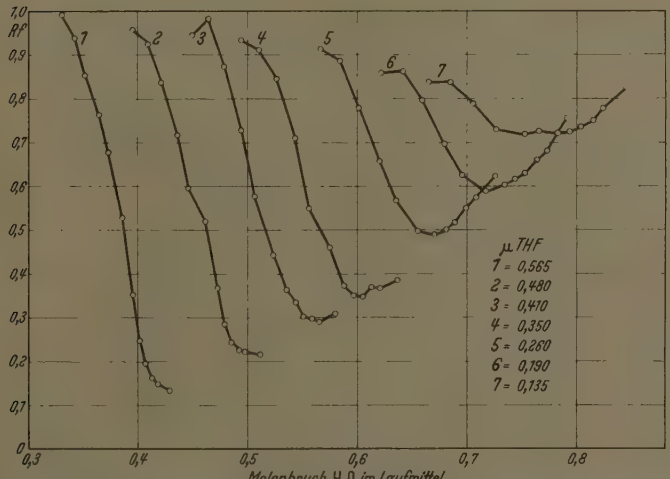


Abb. 11. R_f-Werte von Kobalt im System Tetrahydrofuran/H_2O/HCl als Funktion des H_2O- und des Tetrahydrofurangehaltes

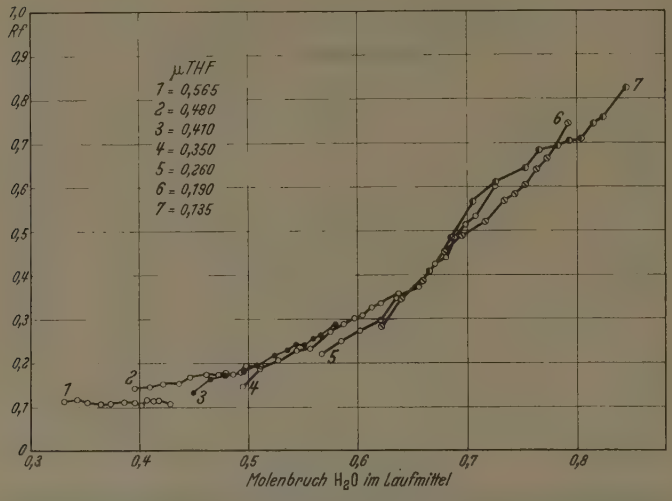


Abb. 12. R_f-Werte von Nickel im System Tetrahydrofuran/H_2O/HCl als Funktion des H_2O- und des Tetrahydrofurangehaltes

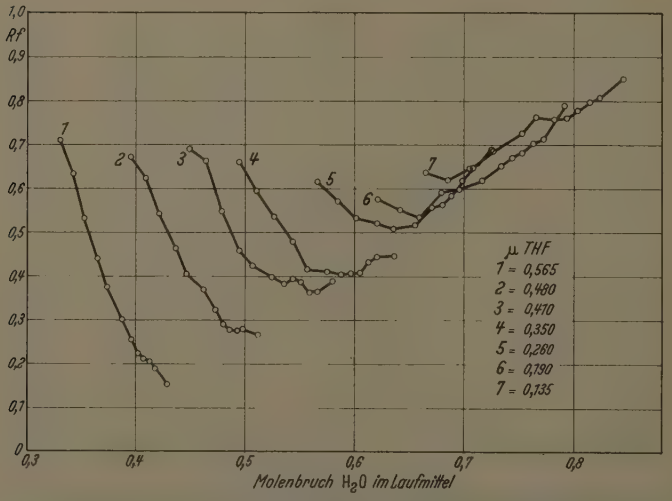


Abb. 13. R_f-Werte von Mangan im System Tetrahydrofuran/H_2O/HCl als Funktion des H_2O- und des Tetrahydrofurangehaltes

Kupfer, Kobalt und Mangan. In der ersten Gruppe verhalten sich Nickel, Magnesium und Aluminium gleichartig; Calcium kann von ihnen leicht getrennt werden.

Die Aufgliederung der R_f-Kurven in einzelne Typen liefert einen ersten Ansatzpunkt für die theoretische Behandlung der Transportvorgänge in Papierchromatogrammen. Darüber wird in der folgenden Mitteilung berichtet werden.

Zusammenfassung

1. Die R_f-Werte der Elemente Magnesium, Calcium, Aluminium, Gallium, Kupfer, Zink, Cadmium, Mangan, Eisen, Kobalt und Nickel im Laufmittelsystem Tetrahydrofuran-Wasser-Chlorwasserstoff werden mittels zahlreicher Messungen als Funktionen der Laufmittelzusammensetzung festgelegt.

2. Bei diesen R_f-Funktionen lassen sich 4 Typen unterscheiden.

3. Aus den einzelnen R_f-Kurven ergeben sich zahlreiche analytische Trennmöglichkeiten.

Literatur

[1] Hartkamp, H.: Diss. Univ. Münster 1957. — [2] Hartkamp, H., u. H. Specker: diese Z. **152**, 107 (1956). — [3] Lederer, E., and M. Lederer: Chromatography, Elsevier Publishing Co., Amsterdam, London, New York 1955. — [4] Über chromatographische und elektrophoretische Filterpapiere, Druckschrift der Fa. Schleicher & Schüll, Dassel, Krs. Einbeck.

Dipl.-Chem. Dr. H. Hartkamp, Privatdozent Dr. H. Specker,
Institut für Spektrochemie und angewandte Spektroskopie, Dortmund-Aplerbeck, Marsbruchstraße 186

The Second Chemical Institute of the Vienna University (Austria)

Fast Grey R.A. as a New Colorimetric Reagent

Part II

Spectrophotometric Microdetermination of Copper*

By
H. Khalifa

With 4 Figures in the text

(Eingegangen am 5. April 1957)

This investigation was initiated to develop a simple, rapid and sensitive procedure for the micro-determination of copper in the presence of other metals without separation. Since the present method is sensitive to 0.02 ppm of copper, it may be useful for its estimation in steels, ferroalloys, and relative raw materials and products as well as for water

* Part I.: See Z. analyt. Chem. **158**, 1 (1957).

analysis. Although many methods have been proposed for the colorimetric determination of copper in such materials, most of them require a number of preliminary separations. Among the most important colorimetric methods are those making use of neocuproine[1], sodium diethyldithiocarbaminate[3, 4], and alpha-benzoinoxime[2]. By the present method it is possible to determine copper in presence of 500 fold its amount of ferric iron, just by reduction of iron into the ferrous state with ascorbic acid. The Fast Grey-copper compound is sufficiently stable for the purpose of routine analysis.

Experimental

All the chemicals used in this investigation were of the highest purity. The water used was always twice distilled.

Solutions. The copper solution was prepared by dilution from a concentrated copper nitrate solution containing 0.01314 g per 1 ml as determined by volumetric and gravimetric procedures.

The dye solution was prepared by dissolving the calculated amount in the appropriate volume of water.

Preliminary Experiments. The violet-red Fast Grey-copper compound was developed in a series of nitric and hydrochloric acid solutions following the sequence of addition of 1 ml copper solution (50 μg Cu) + 5 ml 0.2, 0.1, 0.05 and 0.02 N acid solution + 3 ml 0.05% reagent solution + water up to 10 ml in volumetric flasks. Conclusions were drawn that the best colour is developed in the presence of 5 ml of 0.02 N acid per 10 ml. The intensity of colour is about the same in nitric or hydrochloric acid media, the coloured solutions are stable for several hours except that precipitation occurs only after four hours with solutions of higher acidities than 0.05 N, and further that the colour of the Fast Grey-copper compound is developed immediately after addition of the dye solution.

Effect of Alcohol and Acetone. By developing the coloured copper-Fast Grey compound in solutions made 30% in respect to acetone or ethyl alcohol it was concluded that both solvents are without influence on the developed colour.

Selection of the Suitable Wavelength. On measuring the absorbance of a blank and of a coloured solution containing 20 μg copper per 10 ml against pure water and against each other (difference curve) with a recording Beckman spectrophotometer, a peak was observed in the latter curve, corresponding to a maximum absorbance at a wavelength of 555 mμ.

The Molecular Structure of the Fast Grey-Copper Compound. Fast Grey (1-azo-m- hydroxy naphthyl-2-hydroxy-3-nitrobenzene-5-sulphonic acid) is an azo-dye with the constitutional formula $C_{16}H_{11}O_7N_3S$. In order to investigate the molecular structure of its compound with copper,

measurements were carried out with a Beckman spectrophotometer of type B with a blue-sensitive photocell and 1 cm cells at a wavelength of 555 mμ using 50 μg cation per 10 ml. The sequence of addition followed was 1 ml copper solution (50 μg Cu) + 5 ml 0.02 N nitric acid + increasing volumes of freshly prepared 0.04% reagent solution + water up to 10 ml. A solution of the same acidity containing 1 ml 0.04% reagent per 10 ml was used as the blank. Representative results are listed in Table 1.

Table 1

ml Reagent	1.0	1.25	1.375	1.5	1.625	1.75
Absorbancy	0.58	0.79	0.85	0.88	0.90	0.95

From the above data and the corresponding Fig. 1 it is apparent that the amount of the dye required to react quantitatively with 50 μg copper per 10 ml is ~ 1.57 ml from which the molecular weight of the dye is calculated to be 399 on the basis that the dye is monobasic which is the case. The latter value is in concordance with the exact molecular weight of 389.34 indicating that the molecular structure of the copper-Fast Grey compound is in the ratio of one mole of copper to two moles of the reagent.

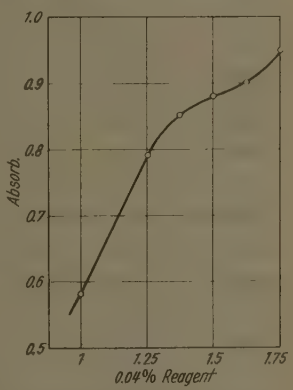


Fig. 1. Variation of absorbance with reagent concentration

Sensitivity and Sequence of Additions. Sensitivity of the method was tested by measurements with a Lange-photometer, model VI, connected to a galvanometer on which 200 divisions correspond to 50% absorbancy. It was easily possible to determine 0.02 ppm of copper using a cell of a light path of about 34 mm and a capacity of about 5 ml. On the other hand it was possible to carry out measurements with the Beckman spectrophotometer starting from 0.1 ppm of copper, and hence, to determine such an amount by using a Beckman instrument.

In order to test the influence of a variation of the sequence of addition of the constituents in presence of which the coloured copper compound is developed, measurements were carried out with the Beckman instrument which led to the conclusion that the same colour is produced whether the sequence is Cu + acid + reagent, Cu + reagent + acid or acid + reagent + Cu.

Effect of Time. By measuring the absorbancy of a number of solutions immediately after addition of the reagent, the values obtained were practically of the same magnitude as those obtained when the measure-

ments were recorded one or several hours after preparation. This indicates that the coloured compound requires very little time to be completely developed and further that it is stable for a considerable period of time.

Influence of Temperature. The data in Table 2 show no appreciable influence of temperature between 18 and 30° C.

Table 2

Temp. °C	g Copper per 20 ml					
	10		30		50	
	Trans.	Absorb.	Trans.	Absorb.	Trans.	Absorb.
18	69.0	0.15	35	0.455	17	0.765
25	69.0	0.15	34	0.470	16	0.800
30	69.0	0.15	33	0.483	15.5	0.820

Influence of Foreign Ions. Preliminary experiments were carried out in test tubes each containing 1 ml of a solution equivalent to 10 μg Cu. Then starting from the second test tube different cations were added either in solution of known acidity and content or as solid containing 10 to 100 fold the amount of copper. 0.0 2 N nitric acid was then added, so as to bring the solution to the same acidity in all test tubes, followed by 3 ml of 0.005% reagent. The volume was made up to 10 ml with water and the contents well mixed. By comparing the developed colours with that of the first tube containing pure copper solution, the conclusion was drawn that cations of U, Mg, Co, Al, Cr, Ni, Cd, Zr, Th, Bi, Pb, Mn, Sn, Zn, Ag, Hg^{+}, Mo, W, Na, K, NH_4, the rare and the alkaline earths, in at least 10 fold the amount of copper do not interfere with its determination. Although the presence of ferric iron is of great influence, trials to mask it by reduction with ascorbic acid were, to a great extent, successful.

Measurements were carried out with the Beckman instrument using a series of solutions containing 10 μg copper + increasing amounts of ferric iron ranging from 0.1 to 5 mg + 0.2 M ascorbic acid solution (1—2 ml) per 10 ml, and for comparison a pure copper solution containing the same acid gradient and copper content. A

Table 3

Solution	1	2	3	4	5
Trans.	61	63	63	62.5	59
Absorb.	0.215	0.2	0.2	0.205	0.23

1: 10 μg Cu per 10 ml. 2—5: 10 μg Cu + 0.1, 1, 3 and 5 mg Fe^{+3} respectively + 1—2 ml of 0.2 M ascorbic acid per 10 ml.

solution of the same acidity in the presence of ascorbic acid was used as the blank. In the presence of 1 mg ferric iron the violet-red colour of the Fast Grey-copper compound faded with time becoming faint brownish-yellow and shows a greater transmittance than the blank. On adding ascorbic acid to such a solution the violet-red colour immediately reappears. Representative data are listed in Table 3.

In order to test the influence of foreign anions measurements were carried out using 10 μg Cu per 10 ml in the presence of a mixture containing anions of chloride, sulphate, acetate, molybdate, oxalate, citrate and tartrate, in at least 10 fold the amount of copper. The absorbance

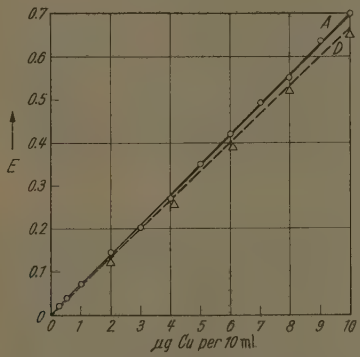


Fig. 2. Extinction versus concentration. *A* with pure copper solutions. *D* with copper + 10fold Fe^{3+} + 0.1 ml 0.2 M ascorbic acid (Lange photometer)

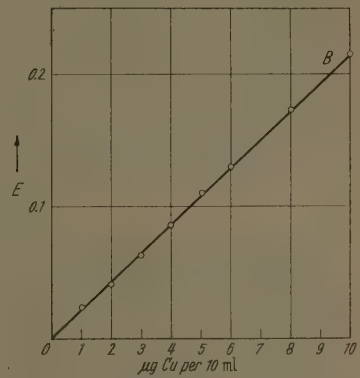


Fig. 3. Extinction versus concentration. *B* with pure copper solutions (Beckman spectrophotometer)

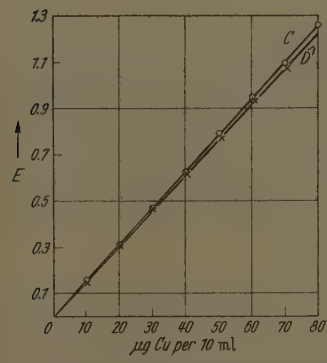


Fig. 4. Extinction versus concentration. *C* with pure copper solutions *D'* with copper + 10 fold Fe^{3+} + 1 ml 0.2 M ascorbic acid (Beckman spectrophotometer)

of the resulting coloured solution was practically the same as that of a pure copper solution of the same acidity and copper content. Phosphate ion in milligram amount was also without influence on the Fast Grey-copper compound.

Obeyance of Beer's law. Two sets of measurements were carried out, one covering the range of 0.25 to 10 μg Cu per 10 ml using the Lange photometer, and the other covering the range of 1 to 80 μg Cu per 10 ml using the Beckman spectrophotometer. Both sets of measurements indicated that the variation of concentration with extinction conforms satisfactorily with Beer's Law. Results are represented graphically by curves A, B and C (Fig. 2, 3 and 4).

Measurements to test the obeyance of Beer's law in the presence of 10 fold the copper amounts, of ferric iron after reduction with

ascorbic acid are represented graphically by the curves D (Fig. 2), and D′ (Fig. 4).

Procedure. 1 ml of the neutral copper solution containing between 0.02 to 1 or 1 to 8 ppm of copper is transferred to a 10 ml volumetric flask. The reagents are pipetted into the flask in the following order, mixing after each addition: 5 ml 0.02 N nitric acid solution, 3 ml 0.005 or 0.05% freshly prepared solution of the dye, respectively, with low and high copper concentrations. The absorbancy is measured against a blank containing the same acid gradient but without copper, using the Lange photometer and green filters with maximum absorbance at 555 mμ, or the Beckman spectrophotometer at the same wavelength, with low and high copper contents respectively. The concentration of copper can be read from curves prepared in the same manner from standard copper solutions. The colour, under these conditions, is developed immediately and is stable for a considerable period of time.

Summary

Fast Grey R.A.-dye has proved to be applied as a sensitive colorimetric reagent for microdetermination of copper. By its aid it is possible to measure concentrations of copper between 0.02 and 8 ppm, in the presence of many other cations and anions, at a wavelength of 555 mμ. Further it is possible to determine copper with fair accuracy in the presence of 500 fold its amount of ferric iron after reduction of the latter element with ascorbic acid.

References

[1] Breckenridge, J. G., R. W. J. Lewis and L. A. Quick: Canad. J. Res., Sect. B **17**, 258 (1939). — [2] Dunleavy, R. A., S. E. Wiberley and J. H. Harley: Analyt. Chemistry **22**, 170 (1950); cf. Z. analyt. Chem. **134**, 66 (1951/52). — [3] Hague, J. L., E. D. Brown and H. A. Bright: J. Res. nat. Bur. Standards **47**, 380 (1951). — [4] Livingstone, J. K., and N. D. Lawson: Analyt. Chemistry **25**, 1917 (1953); cf. Z. analyt. Chem. **144**, 63 (1955).

Dozent Dr. H. Khalifa, Cairo Univ., Fac. Science, Chem. Dep. Guiza, Egypt.

The Second Chemical Institute of The Vienna University (Austria)

Fast Grey R.A. as a New Colorimetric Reagent

Part III

Microdetermination of Vanadium*

By

H. KHALIFA and A. FARAG

With 5 Figures in the text

(Eingegangen am 6. Mai 1957)

The present investigation has been initiated to develop a rapid, precise, and sensitive method for the microdetermination of vanadium. The colorimetric methods cited in the literature for the estimation of this metal are limited in number, and most of them are not suitable for estimation of traces of vanadium[3, 5], or further necessitate extraction of the coloured compound[6], or involve a considerable number of interferences[3]. Since one of us was undertaking the estimation of trace amounts of vanadium in mineral oils and oil-well brines expected to contain low concentrations in the order of 1 to 5 μg vanadium per given sample, the need for a reliable method for estimating such small quantities promoted the development of the method described herein. The present method has some advantages in comparison with others, namely the quantitative estimation of 0.01 ppm (and hence the high sensitivity), the use of a Beckman instrument for determining low vanadium concentrations in the limits of 0.05 to 1 ppm, the rapid and simple procedure, and the elimination of most of the known interferences, especially ferric iron up to an average of 40 fold the amount of vanadium.

Experimental

Compounds. The materials used for the preparation and standardisation of vanadium or as interfering elements were all of the required purity. These included ammonium vanadate, sodium tungstate, mercurous nitrate, potassium permanganate, nitrates of the alkaline and the rare-earths, thorium, uranium, bismuth, cobalt and nickel, chlorides of zinc and ferric iron, sulphate of cadmium, acetate of lead, oxalate, tartrate, citrate, acetate, phosphate, sulphate and chloride of sodium or potassium.

Solutions. The vanadium solution: 1.146 g of the A.R. ammonium vanadate were dissolved in one liter of pure water. The resulting neutral solution was standardised following the colorimetric procedure of SANDELL[2] and the volumetric method of SNELL[4]. The results obtained by both procedures showed practically no deviation from each other.

* Part II: See Z. analyt. Chem. **158**, 103 (1957).

Stock Solutions. A solution containing 100 μg vanadium per 1 ml was prepared by the appropriate dilution with water from the above concentrated solution. Further dilutions were prepared from this stock solution.

The buffer solutions in presence of which the coloured vanadium-Fast Grey compound was developed included acetic-sodium acetate buffers of p_H's 3.42—5.89. The acid solutions involved 0.2 M acetic, 0,02 M nitric, 0.05 M hydrochloric and 0.4 M ascorbic acid solutions.

The reagent solution: An aqueous solution was prepared by dissolving the calculated amount in the appropriate volume of pure water.

The ferric iron solutions: Two solutions containing either 100 or 400 μg per 1 ml and each 0.01 N in respect to hydrochloric acid were prepared by dilution from concentrated ferric iron solutions of known acidity and iron content.

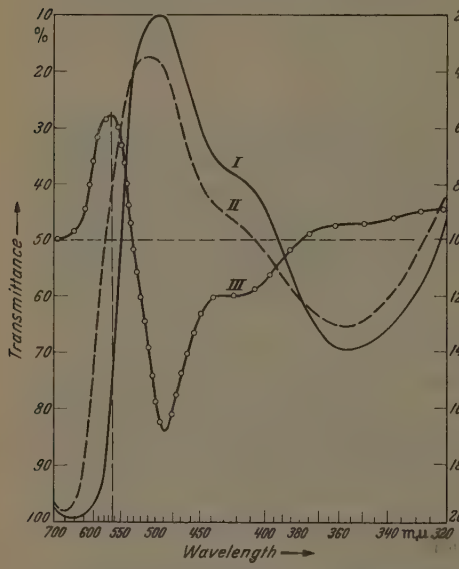


Fig. 1. Relation of transmittance to wavelength. *I* Blank (2 ml 0.05 M HCl + 3.5 ml 0.01% reagent + 0.1 ml 0.4 M ascorbic acid + H_2O up to 10 ml). *II* Solution (2 ml 0.05 M HCl + 10 μg V + 3.5 ml reagent + 0.1 ml 0.4 M ascorbic acid + H_2O up to 10 ml). *III* Difference curve (0—200% T)

Effect of p_H. The violet-red colour of the vanadium-Fast Grey compound was developed in presence of the different above mentioned buffer and acid solutions. The sequence of additions used was the following one: 1 ml (10 μg V) + 5 ml buffer or 2—2.5 ml acid solution + 3 ml 0.01% reagent + H_2O up to 10 ml. The best colours were developed in the presence of 5 ml of 0.2 M acetic, 2.5 ml of 0.02 M nitric or 2 ml 0.05 M hydrochloric acid solutions per 10 ml.

Effect of Alcohol and Acetone. The colours developed in solutions made 30% in respect to pure ethyl alcohol or acetone were practically of the same magnitude as those developed in purely aqueous solutions.

Selection of the Suitable Wavelength. By aid of a recording Beckman spectrophotometer* the maximum absorbancy of the coloured Fast Grey-vanadium compound was found to be at a wavelength of 560 mμ. (Curve 3, Fig. 1.)

Molecular Structure of the Vanadium-Fast Grey Compound. Fast Grey is a sulphonic acid azo-dye with the formula $C_{16}H_{11}O_7N_3S$. The molecular

* We express our thanks to Dr. J. Derkosch for recording the curves (Fig. 1).

structure of its compound with vanadium was investigated by measuring the absorbance of a number of solutions with a Beckman instrument of type B with a blue-sensitive photocell and 1 cm cells. The solutions were prepared by pipetting 1 ml (10 μg V), 2.5 ml 0.02 M nitric acid + increasing volumes of 0.01% reagent + water up to 10 ml in volumetric flasks. Pure water was used as the blank. Representative data are listed in Table 1.

Table 1

ml 0.01% Reagent	3	3.125	3.25	3.375	3.5	3.75
Trans.	46	44.2	43.5	43	43	42
Absorb.	0.34	0.355	0.365	0.367	0.367	0.375

These results and the corresponding Fig. 2 indicate that the volume of 0.01% reagent reacting quantitatively with 10 μg V per 10 ml is about 3.5 ml, from which the molecular weight of the dye is calculated to be 356.6 on the basis that it is monobasic which is the case. This value is not far deviated from the exact molecular weight of 389.34, suggesting thus a molecular structure of 1 mole of vanadium and 5 moles of the dye. By applying the same procedure with 0.2 M acetic acid solution the volume of 0.01% reagent reacting with 10 μg Vanadium was found to be 3.625 ml, corresponding to a molecular weight of 370.

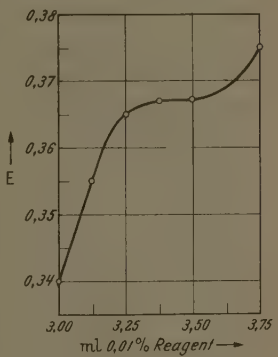


Fig. 2. Variation of absorbancy with concentration of reagent

Sensitivity and Sequence of Additions. By applying the same instruments previously used for this purpose, it was easily possible to determine with fair accuracy 0.020 ppm of vanadium with the sensitive photometer. On the other hand it was possible to determine a vanadium amount as low as 0.1 ppm with a Beckman spectrophotometer. Sensitivity of the method could further be improved to the extent of measuring 0.01 or 0.05 ppm with a Lange or a Beckman instrument respectively, by the addition of ascorbic acid to the coloured Fast Grey-vanadium compound whereby the intensity of the colour was pronouncedly increased.

Measurements with the Beckman instrument with a varied sequence of additions of the constituents in presence of which the coloured vanadium-Fast Grey compound is produced showed that the same colour is developed whether the sequence followed is V-acid-R, V-R-acid or acid-R-V.

Effect of Time. By measuring the absorbancy of a number of solutions involving 10 to 80 μg V per 10 ml, 20, 35, 50 and 180 minutes after addition of reagent, the results in Table 2 were obtained. The blank used contained 2.5 ml 0.02 M nitric acid + 3.5 ml 0.1% reagent + water up to 10 ml. The solution contained the same gradients + 10 to 80μg V.

Table 2

μg V per 10 ml	20 min		35 min		50 min	
	Trans.	Absorb.	Trans.	Absorb.	Trans.	Absorb.
10	65	0.187	65	0.187	65	0.187
20	46	0.337	43.5	0.363	43.5	0.363
30	31	0.510	30.5	0.517	30.5	0.517
40	20	0.700	18.0	0.740	18.5	0.735
50	15	0.830	14.7	0.840	14.7	0.840
60	9.5	1.05	9.0	1.06	9.0	1.06
70	6.5	1.20	6.5	1.20	6.5	1.20
80	4.0	1.40	4.0	1.40	4.0	1.40

The above data indicate that the coloured vanadium-Fast Grey compound is completely formed within half an hour, and further that it is stable for a considerable period of time, since the results of measurements three hours after preparation showed practically no deviations. On the other hand coloured solutions to which ascorbic acid was added were found to be stable within half an hour, and thereafter the colour faded slowly with time with a deviation of about 5% as obtained one hour after preparation.

Influence of Temperature. Measurements carried out with solutions containing 10 to 50 μg V per 10 ml in nitric acid medium at temperatures varying between 20 and 30° C (Table 3) showed little influence of temperature on the development of the coloured F.G.-V compound.

Table 3

μg V per 10 ml	20° C		25° C		30° C	
	Trans.	Absorb.	Trans.	Absorb.	Trans.	Absorb.
10	67	0.175	66	0.180	65	0.186
30	32	0.495	31.5	0.502	30.5	0.513
50	15.7	0.810	15	0.830	14.5	0.840

Influence of Foreign Ions. Preliminary experiments were carried out with 10 μg V in the same way as those carried out with zirconium[1]. The conclusion was drawn that cations of the alkaline and the rare-earths (except zirconium), Al, Co, Th, U, Pb, Hg^+, Ag, Na, K and NH_4 in at least ten fold the amount of V do not interfere with its determination. Among the interfering elements are to be mentioned cations of copper, zirconium and ferric iron.

As regards anions, a mixture of chloride, sulphate, acetate, nitrate tungstate, oxalate, citrate, tartrate, phosphate in at least 10 fold the vanadium amount do not interfere with its determination.

In order to eliminate the ferric iron interference a number of complexing or reducing agents including sulphosalicylic, tartaric, citric, ascorbic acids, and hydroxylamine hydrochloride were used. Among these agents ascorbic acid has proved to be appreciably effective in eliminating the ferric iron interference. Solutions containing ferric iron together with vanadium acquired a yellowish-oily brown colour after addition of the reagent. When we tried to eliminate such an interference by adding 0.1 ml of 0.4 M ascorbic acid solution to the mixture of vanadium and iron, followed by the reagent solution, the yellowish-brown colour no longer appeared but the original reddish-violet colour of the F.G.-V compond needed very long time to be completely developed. However, when ascorbic acid was added after addition of the reagent and appearance of the yellowish-brown colour, the original F.G.-V colour was quickly developed, but it still required a long period of time to acquire a stable condition. We were able to overcome this problem by immersing the flasks containing the solution mixtures into boiling water for 2 to 4 min. By such treatment the intense colour was completely developed in such a small period of time. Results are mentioned later.

We succeeded in eliminating the interference due to copper up to an average of 2 fold the vanadium amount in the region of 1 to 10 μg V per 10 ml by applying a same procedure as that applied with ferric iron and moreover adding 0.1 ml of a 2 M ammonium thiocyanate solution. If the copper amount exceeded 20 μg per 10 ml, precipitation began to show. In Table 4 are listed representative results obtained with solutions containing vanadium + copper together with those of pure vanadium solutions subjected to the same treatment as that applied for eliminating the copper interference, within 15 min after preparation.

Table 4

μg V per 10 ml	2	4	6	8	10
Absorb.	0.06	0.117	0.173	0.225	0.275
μg V + 10 μg Cu per 10 ml	2	4	6	8	10
Absorb.	0.065	0.120	0.175	0.226	0.278

Obeyance of Beer's *Law.* Three sets of measurements were carried out in the different above mentioned acid media. The first set involved measurements with the Lange photometer using pure vanadium solutions containing 1 to 10 μg per 10 ml. The second set involved measurements with the Beckman spectrophotometer using pure vanadium solutions containing 10—80 μg per 10 ml. The third set involved measurements with hydrochloric acid solutions containing either 1 to 10 or 10 to 50 μg

pure vanadium or the same amounts of vanadium + 200 to 400 μg ferric iron per 10 ml. 0.1 ml of 0.4 M ascorbic acid solution was always added after the reagent solution. The mixed solutions were heated by immersing the containers into boiling water for 2 to 3 min. Absorbancy of such solutions was measured with a Beckman instrument. The three sets of measurements showed that the variation of concentration with extinction conforms satisfactorily with Beer's law. Results are graphically represented by the curves Fig. 3 to 5.

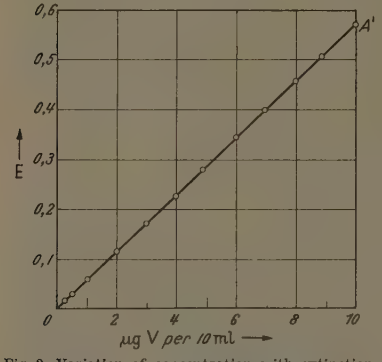


Fig. 3. Variation of concentration with extinction. *A'*: representative of the three acid media, acetic, HCl and HNO_3. (Lange photometer)

Procedure. For pure vanadium solutions, 1 ml of the neutral solution containing between 0.02 and 1 or 0.05 and 8 ppm is transferred to a 10 ml volumetric flask. The reagents are pipetted into the flask in the following order, mixing after each addition: 2 ml 0.05 M hydrochloric acid, 3.5 ml 0.01% or 0.1% freshly prepared solution of the reagent, and water up to the mark with low and high vanadium concentrations respectively. The absorbancy is measured against a blank containing the same acid gradients but without vanadium using the Lange photometer and orange filters with maximum absorbancy at

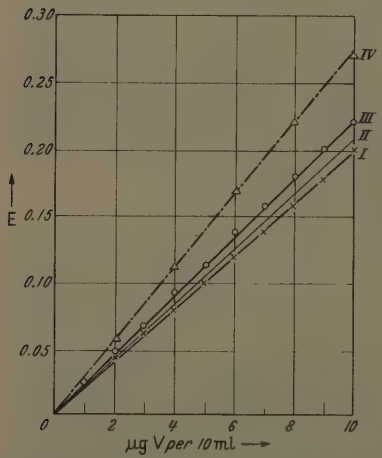


Fig. 4. Variation of concentration with extinction. *I* in acetic acid medium. *II* in HCl medium. *III* in HNO_3 medium. *IV* in HCl + ascorbic acid medium (pure vanadium or vanadium + 200 to 400 μg Fe^{3+}). (Beckman spectrophotometer)

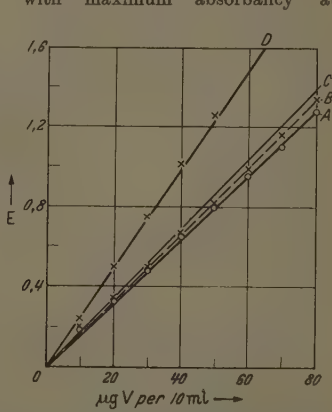


Fig. 5. Variation of concentration with extinction. *A* in acetic acid medium. *B* in HCl medium. *C* in HNO_3 medium. *D* in HCl + ascorbic acid medium (pure vanadium or vanadium + 400 μg Fe^{3+}). (Beckman spectrophotometer)

560 mμ, or the Beckman spectrophotometer at the same wavelength. The concentration of vanadium can be read from curves prepared in the same manner from standard vanadium solutions. The colour under these conditions is developed within 20 minutes and is stable for several hours.

For V-extracts containing ferric iron up to 400 μg, or copper up to 20 μg, the solution is evaporated to dryness on a water bath. The residue is dissolved in 2 ml of 0.05 M hydrochloric acid by the aid of warming if necessary. The mixture is taken quantitatively with few ml aliquot portions of water into 10 ml flasks. The appropriate amount of reagent is then added (3.5 ml 0.01% with 1—10 μg V per 10 ml and 1.5 ml 0.1% with 10—50 μg V per 10 ml), followed by 0.1 ml of 0.4 M (7%) ascorbic acid solution. If copper is present 0.1 ml of a 2 M NH_4SCN solution is then added, finally water is added up to the mark, the contents are well mixed, the flasks immersed into boiling water for 2—3 min, cooled and the absorbancy is then measured within 30 min with a Beckman instrument, 1 cm cells and a blue-sensitive photocell at a wavelength of 560 mμ. The concentration of vanadium can be read from standard solutions of the same above composition. Under these conditions the colour is immediately developed after cooling and is stable for 30 min.

Summary

Fast Grey R.A. dye can be used for the colorimetric microdetermination of vanadium in the limits of 0.01 to 1 ppm with a sensitive photometer and 0.05 to 8 ppm with a Beckman instrument, at 560 mμ. A large number of cations and anions up to 10 fold the vanadium amount do not interfere with its determination. Interference due to ferric iron up to an average of 40 fold or copper up to 2 fold the vanadium concentration is simply eliminated by reduction with ascorbic acid and heating in the case of iron or by the same treatment and the addition of ammonium thiocyanate solution in the case of copper.

References

[1] Khalifa, H., and M. R. Zaki: Z. analyt. Chem. **158**, 1 (1957). — [2] Sandell, E. B.: Colorimetric Determination of Traces of Metals 2. Edit., p. 607, New York, London 1950. — [3] Shome, S. C.: Analyt. Chemistry **23**, 1186 (1951); cf. Z. analyt. Chem. **137**, 286 (1952/53). — [4] Snell, F. D.: Colorimetric Methods of Analysis. 3. Edit., p. 453. D. Van Nostrand Co. Inc. Toronto, New York, London 1949. — [5] Willard, H. H., E. L. Martin and R. Feltham: Analyt. Chemistry **25**, 1863 (1953); cf. Z. analyt. Chem. **144**, 140 (1955). — [6] Wise, W. M., and W. W. Brandt: Analyt. Chemistry **27**, 1392 (1955); cf. Z. analyt. Chem. **152**, 359 (1956).

Dozent Dr. H. Khalifa, Cairo Univ., Fac. Science, Chem. Dep., Guiza, Egypt.

Department of Chemistry, Banaras Hindu University, Banaras (India)

Ferricyanide-Iodometric Determination of Hydroxylamine

By

B. R. Sant

(Eingegangen am 27. Mai 1957)

The determination of hydroxylamine, based upon its oxidation to nitrogen by excess potassium ferricyanide in weakly alkaline medium and titration of the ferrocyanide formed against standard ceric sulphate, was reported recently from these Laboratories[3]. An attempt has now been made to extend this work by estimating the excess oxidant iodometrically with sodium thiosulphate[4] or arsenious oxide[1].

Experimental

The hydroxylamine content of a stock solution of hydroxylamine hydrochloride was found out by the well-known bromate method[2]. An aliquot volume of the hydroxylamine hydrochloride solution was treated with a measured excess of $K_3Fe(CN)_6$ solution and borax-boric acid mixture as described earlier[3]. The unused ferricyanide was determined either directly or in an aliquot portion after diluting to a suitable volume. To the ferricyanide solution just acidified with HCl or H_2SO_4, 20 ml of 10% potassium iodide solution and 2 g of pure zinc sulphate in 15 ml water were added and the liberated iodine was titrated against standard thiosulphate solution to the usual starch end point. Alternatively, the iodine liberated was titrated against standard arsenious oxide solution in a medium buffered with borax-boric acid mixture using starch as indicator. The difference in the initial and the final volume of thiosulphate or arsenious oxide corresponds to the amount of hydroxylamine present in the system:

$$2NH_2OH + 2[Fe(CN)_6]^{3-} + 2OH^- \rightarrow N_2 + 2[Fe(CN)_6]^{4-} + 4H_2O \quad \text{(i)}$$

$$2K_3Fe(CN)_6 + 2KI + 3ZnSO_4 \rightarrow Zn_3K_2[Fe(CN)_6]_2 + I_2 + 3K_2SO_4 \quad \text{(ii)}$$

$$2Na_2S_2O_3 + I_2 \rightarrow Na_2S_4O_6 + 2NaI \quad \text{(iii)}$$

$$As_2O_3 + 2I_2 + 2H_2O \rightarrow As_2O_5 + 4HI \quad \text{(iv)}$$

Thus $1NH_2OH \cong 1K_3Fe(CN)_6 \cong 1Na_2S_2O_3 \cong {}^1/_4\, As_2O_3$, or, 1 ml N $Na_2S_2O_3$ or As_2O_3 is equal to 0.033024 g NH_2OH or 0.069465 g $NH_2OH \cdot HCl$.

Results of a representative set of experiments are entered in Table 1. It will be seen that the values calculated are in close agreement with those obtained by the standard bromate procedure.

In the ferricyanide-cerimetric estimation of hydroxylamine[3], the presence of too large a quantity of the oxidant (more than thrice the theoretical) imparted a dark-brown coloration and rendered the perception of the correct end point difficult. However, in the present method since the excess ferricyanide was estimated its initial concentration was

Table 1

$NH_2OH \cdot HCl$ (g)			Difference	
by Bromate x	by Thiosulphate a	by As_2O_3 b	$x-a$	$x-b$
0.01530	0.01535	0.01529	0.00005	0.00001
0.02295	0.02280	0.02293	0.00015	0.00002
0.03060	0.03070	0.03057	0.00010	0.00003
0.06120	0.06141	0.06113	0.00021	0.00007
0.07650	0.07676	0.07642	0.00016	0.00008
0.1224	0.1228	0.1223	0.0004	0.0001

not expected to affect the accuracy of the results. This was confirmed by preliminary experiments carried out with two to eight times the theoretical quantity of $K_3Fe(CN)_6$. Furthermore, the use of As_2O_3 as a primary standard for the volumetric determination of hydroxylamine offers a distinct advantage.

Summary

Volumetric determination of hydroxylamine, based upon its oxidation by a known excess of potassium ferricyanide in borax-boric acid medium and iodometric titration of the excess with standard thiosulphate or arsenious oxide, is described.

Sincere thanks of the author are due to Professor S. S. Joshi for research facilities.

References

[1] Deshmukh, G. S., and B. R. Sant: J. Indian chem. Soc. **29**, 543 (1952); cf. Z. analyt. Chem. **140**, 69 (1953). — [2] Kolthoff, I. M.: Volumetric Analysis, p. 469, J. Wiley & Sons, New York, 1929. — [3] Sant, B. R.: Z. analyt. Chem. **145**, 257 (1955). — [4] Vogel, A. I.: A Text Book of Quantitative Inorganic Analysis, p. 356, Longmans, Green & Co., London, 1951.

Dr. B. R. Sant, M. Sc., Ph. D., Department of Chemistry,
Banaras Hindu University, Banaras (India)

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

I. Allgemeine analytische Methoden, Apparate und Reagentien

Flammenphotometrie. In einem Übersichtreferat behandelt A. Steens-Lievens[1], die allgemeinen Grundlagen der Flammenphotometrie unter besonderer Berücksichtigung der Anwendung für medizinische Zwecke. Für die Natrium- und Kaliumbestimmung wird als „innerer Standard" Lithiumsulfat vorgeschlagen. Das Verfahren mit einem inneren Standard ist der sogenannten Absolutmethode erheblich überlegen. Man wird dadurch von den Fehlern unabhängig, die durch die Schwankungen im

[1] J. Pharmac. Belgique, N.S., **11**, 541—548 (1956). Univ. Brüssel (Belgien).

Gas- oder Luftdruck, durch den unterschiedlichen Gehalt an Schwefelsäure, Kaliumchlorid oder Methanol zustande kommen. In 5 Abb. werden die Fehler der beiden Methoden in Abhängigkeit von den genannten äußeren Bedingungen angegeben. Sie können bei der Absolutmethode bis zu 45% betragen. Mit einem inneren Standard beträgt bei 750 Natriumbestimmungen (140 m val/l) die Standardabweichung 4, bei der Kaliumbestimmung (4,2 m val/l) 0,4. Ferner enthält die Arbeit eine Zusammenstellung der Krankheitsfälle, wo eine schnelle und genaue Alkalibestimmung besonders wichtig ist. H. Specker

W. Bunge und R. Neuber[1] berichten darüber, daß sie bei *flammenphotometrischen Serienanalysen* die Prozent-Gehalte nicht aus Eichkurven, sondern aus vorbereiteten Tabellen entnehmen. Am Beispiel einer *Natriumbestimmung in 95%igem Chlorkalium* führen sie den Auswertegang durch. F. Rosendahl

Infrarotspektroskopie. H. W. Thompson[2] berichtet in einem Übersichtsreferat über den derzeitigen *apparativen, experimentellen und analytischen Stand der Infrarotspektroskopie.* Auf apparativem Gebiet ist die Entwicklung von einfachen Gitterspektrometern bemerkenswert, die insbesondere im Hinblick auf die „Intensitätsspektroskopie" wichtig sind. Fortschritte sind hier noch in der Erarbeitung geeigneter Filter erforderlich. Von steigendem Interesse ist die Ausdehnung der spektralen Untersuchungen in die Gebiete beiderseits des mittleren (NaCl-)Bereiches (2—15 μ). Hier sind häufig wesentliche Ergänzungen der bislang erhaltenen Ergebnisse zu erwarten. Im Hinblick auf die quantitative Analyse erscheint die Gewinnung absoluter Angaben über Extinktionskoeffizienten erforderlich, um übertragbare Ergebnisse zu erhalten. Hierzu ist entweder die Untersuchung der Spektren mit Spaltbreiten unterhalb von einem Fünftel der Bandbreite erforderlich ($\leq$ 1 cm^{-1}) oder die Gewinnung integraler Absorptionswerte. Die Integration der Extinktion über die Frequenz liefert bei der Extrapolation zu kleinen Konzentrationen einen Grenzwert, der weitgehend von der spektralen Spaltbreite und anderen apparativen Einflüssen unabhängig und damit übertragbar ist. Auch in der Zuordnung von Banden bei Konstitutionsaufklärung und Analyse spielt die Intensität eine zunehmende Rolle, da in homologen und anderen Reihen häufig gute Übereinstimmung gefunden wird. In manchen Fällen hilft auch die Untersuchung des Intensitätsverhältnisses von Grund- und Oberschwingungen weiter, das für einige Gruppierungen charakteristische, von Gruppe zu Gruppe verschiedene Werte annimmt. Jedoch dürfte gerade hier noch sehr viel Einzelarbeit erforderlich sein, wie überhaupt die Frage, wie induktive und elektromere Effekte auf Bandenlage und -Intensität einwirken, noch eingehend studiert werden muß. — Umfangreiche Arbeiten sind in den letzten Jahren über die Spektren assoziierter Moleküle im weiteren Sinne und über anorganische Komplexe bekannt geworden, manche von ihnen im Hinblick auf das Verhalten adsorbierter Moleküle (z. B. Gase, Farbstoffe) an verschiedenartigen Unterlagen (Katalysatoren, Fasern). — Schließlich werden noch Bemühungen einer deutsch-englischen Gruppe erwähnt, eine einheitliche Dokumentation des vorliegenden Spektrenmaterials vorzunehmen, um die bisher erarbeiteten Unterlagen rationell zugänglich zu machen.

Für die qualitative Infrarot-Mikrospektroskopie schlagen E. D. Black, J. D. Margerum und G. M. Wyman[3] zwei einfach zu handhabende Verfahren vor. Nach der ersten Methode (selbst tragender Film) wird durch eine geeignete Platte, z. B. eine

[1] Chem. Techn. 8, 733—734 (1956). VEB Elektrochemisches Kombinat Bitterfeld.

[2] Chem. and Ind. 1957, 92—95. The Physical Chemistry, Laboratory, Oxford.

[3] Analyt. Chemistry 29, 169—170 (1957). Research und Development Center, Natick, Mass. (USA).

Glasplatte von 0,09 mm Dicke, mit einem Diamantbohrer ein Loch von 0,5 mm Durchmesser gebohrt. Nach gründlicher Reinigung der Glasplatte gibt man mit einer Mikropipette 4 μl der Lösung, die etwa 0,4% der schwer flüchtigen Verbindung in CCl_4 gelöst enthält, auf die Durchbohrung. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels bleibt ein dünner Film in der Bohrung zurück, dessen IR-Absorption mit befriedigender Genauigkeit gemessen werden kann. Anstatt Glas lassen sich auch andere Platten z. B. Teflon verwenden. Es war möglich, nach diesem Verfahren das Spektrum von *Benzylbenzoat* mit nur 20 μg Substanz zu messen. Die zweite Methode benutzt die Kaliumbromidtechnik und ist für Lösungen mit flüchtigen Lösungsmitteln geeignet. Man stellt sich zunächst mit Handdruck einen Preßling her und legt dann zwei Schlingen aus Platindraht (0,025 cm) von 1 und 4 mm Durchmesser auf den Preßling. Die größere Schlinge umschließt die kleinere. Darauf legt man nun eine bereits gepreßte Kaliumbromidscheibe und preßt beide bei 25000 Pfund Gesamtdruck zusammen. Nach dem Pressen werden die beiden Scheiben mit einer Rasierklinge voneinander getrennt. In der einen Scheibe sind die beiden Schlingen eingebettet, die Gegenscheibe enthält die Einkerbungen der Schlingen. Man versetzt nun die äußere Schlinge mit einem unlöslichen Kitt (Glycerin-Bentonit), trägt die zu untersuchende Lösung mit einer Glascapillare auf und bedeckt sofort mit der eingekerbten Scheibe. Es konnten so Schichtdicken von 0,08 $\pm$ 0,01 mm hergestellt werden. Überprüft wurde die Methode mit Lösungen von *Isobutyraldehyd*, *Azobenzol* u. a. in Bromoform. Für diese Messungen waren etwa 5—20 μg Substanz erforderlich. Für quantitative Untersuchungen sind beide Verfahren noch nicht zu verwenden. H. Specker

Spektralphotometer. R. J. Bartholomew, C. E. Dalgliesh und I. D. P. Wootton[1] berichten über den *Bau eines neuen Spektralphotometers mit zwei Quarzmonochromatoren*, das für Fluorescenz- und Durchlässigkeitsmessungen benutzt werden kann. Die Monochromatoren sind einander parallel so angeordnet, daß sich alle Spalte an derselben Seite des Instrumentes befinden; ebenfalls sind die Bedienungselemente beider Monochromatoren unmittelbar benachbart untergebracht. In der Fluorimeteranordnung wird die Meßküvette, die sich vor dem Eintrittsspalt des zweiten Monochromators befindet, seitlich über den ersten Monochromator beleuchtet (200-W-Xenon-Lampe). Es kann sowohl die Wellenlänge des erregenden Lichtes variiert (220—1000 mμ) als auch die spektrale Verteilung des Fluorescenzspektrums (Photomultiplier) gemessen werden. Für quantitative Bestimmungen lassen sich dadurch sehr spezifische Bedingungen festlegen. Bei Durchlässigkeitsmessungen wird die Meßzelle durch ein Umlenkprisma ersetzt und eine geeignete Probenwechseleinrichtung in den Strahlengang gebracht. Das Gerät läßt sich dann als Doppelmonochromator (Wasserstoff- oder Glühlampe) benutzen. G. Bergmann

Ein automatisches potentiometrisches Titrationsgerät wird von L. Larsson und B. Hansen[2] beschrieben, mit dem Oxydations- und Reduktionstitrationen, Fällungstitrationen u. a. durch Aufnahme der Titrationskurve oder des Äquivalenzpunktes durchgeführt werden können. Das Instrument erlaubt außerdem die Aufrechterhaltung einer bestimmten Konzentration einer Verbindung, die während der Titration verbraucht wird, oder eines konstanten p_H-Wertes. Als Anwendungen werden die *Fällung von AgJ*, *die Einstellung von Natronlauge mit Phthalsäure*, *die Bestimmung der Dissoziationskonstante von Malonsäure und die Geschwindigkeit der Hydrolyse von Buttersäureanhydrid bei p_H 7,82* beschrieben. — Das Gerät besteht aus einem p_H-Meter und dem Registrierteil. Hildegard Pluskal

[1] Biochemic. J. **65**, 27 P (1957). Postgraduate Medical School, London, W. 12.

[2] Svensk. kem. Tidskr. **68**, 521—527 (1956). Res. Inst. of Nation. Def., Sundbyberg (Schweden).

Elektrochemisches Verhalten verschiedener Metallelektroden bei potentiometrischen Titrationen mit Äthylendiamintetraacetat (ÄDTA)-Lösungen. Nach Untersuchungen von B. N. Kabanov und L. Ja. Poljak[1] liefern in ammoniakalischen ÄDTA-Lösungen die Metalle Cr, Al und Sb als Elektroden schlecht reproduzierbare Potentiale, während die mit W, Mo und Pt erhaltenen Potentiale gut reproduzierbar sind. Die 3 letzten Metalle eignen sich daher als Elektroden bei komplexometrischen Titrationen. Die Pt-Elektrode ist aber nur als Bezugselektrode, nicht als Indicatorelektrode verwendbar. Mo und W sind gute Indicatorelektroden. Die Versuche sind mit 0,01 n *Lösungen von* $BaCl_2$ und ÄDTA durchgeführt worden, wobei sowohl Ba mit ÄDTA als auch ÄDTA mit Ba titriert wurden und als Elektrodenpaare Pt/W sowie W und Pt mit HgCl-Elektrode gepaart verwendet wurden. Die Titrationen werden mit und ohne Kompensation durchgeführt, wobei bei Kompensation ein geringer Anodenstrom eingeschaltet wird, der dem Strom bei Titration ohne Kompensation entspricht. Für *Titrationen von Ba, Ca und Mg*, die mit ÄDTA (bei $p_H \gg 7$) stabile Komplexe bilden, werden die an den Elektroden verlaufenden Prozesse wie folgt gedeutet. Das stabile Potential der W-Elektrode in der ammoniakalischen Lösung wird durch Oxydation des Wolframs sowie durch Reduktion des Sauerstoffs am W gedeutet; ÄDTA beschleunigt die anodische Auflösung des Wolframs und verlangsamt gleichzeitig die Ionisation des O_2 am W; der Potentialsprung erfolgt durch den Einfluß von ÄDTA auf den anodischen Prozeß (bei Titration ohne Kompensation). Der Mechanismus der Potentialeinstellung von Mo durch ÄDTA ist verschieden von dem bei der W-Elektrode. ÄDTA senkt nämlich die anod. Oxydation des Mo, beeinflußt aber die kathodische Ionisation des Sauerstoffs nicht. A. v. Wilpert

Zur automatischen Bestimmung und Aufzeichnung von Gewichtsveränderungen (z. B. zur Feststellung der Verdampfungskurve des Acetons oder der Hygroskopizitätskurve von Bariumperchlorat) haben C. Campbell und S. Gordon[2] eine herkömmliche Analysenwaage in einfacher Weise umkonstruiert. Die Waage arbeitet nach dem hydrostatischen Prinzip. An Stelle der rechten Waagschale ist ein Stahlstab aufgehängt, der in eine Flüssigkeit taucht und je nach Gewichtszu- oder -abnahme der Probe mehr oder weniger der Immersionsflüssigkeit verdrängt. Die Flüssigkeitsverdrängung entspricht der Gewichtsveränderung und ist abhängig vom Durchmesser des Stahlstabes und der Dichte der Immersionsflüssigkeit. Der Ausschlag des Waagebalkens ist über einen Bereich von 5 mm linear, durch geeignete Wahl der Immersionsflüssigkeit und des Stabdurchmessers läßt sich jedoch jeder gewünschte Wägebereich erfassen. Die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Gewichtsanzeige ist für einen Wägebereich von 400 mg mit 0,25% angegeben.
K. Machner

Mikrochemische Geräte. Vom Ausschuß für mikrochemische Geräte der Amer. chem. Society (A. Steyermark, H. K. Alber, V. A. Aluise, E. W. D. Huffman, E. L. Jolley, J. A. Kuck, J. J. Moran und C. L. Ogg)[3] werden genaue Maße für Meßkolben (1 bis 5 ml Inhalt), Mikropipetten (0,2—3 ml) angegeben und Mikrozentrifugierröhrchen verschiedener Formen an Hand zahlreicher Abbildungen vorgeschlagen. H. Kurtenacker

Eine einfache Pumpe zum Füllen einer Bürette mit luftempfindlichen Lösungen, die unter einer inerten Flüssigkeit aufbewahrt werden, beschreibt W. R. Dunna-

[1] Ž. anal. Chim. **11**, 678—685 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.).
[2] Analyt. Chemistry **29**, 298—301 (1957). Picatinny Arsenal, Dover, N.J. (USA).
[3] Analyt. Chemistry **28**, 1993—1995 (1956).

VANT[1]. In die Bürette wird ein passender Gummistopfen gesteckt, der mit einem langen Glasstab auf und ab bewegt werden kann. Um die Bürette zu füllen, werden ihre Spitze und der untere Teil mit der Schutzflüssigkeit, die sich mit der Maßlösung nicht mischt, gefüllt. Dann wird der Gummistopfen fest auf die Flüssigkeit gepreßt, so daß die gesamte Luft entweicht und die Bürettenspitze in die Maßlösung, die unter der inerten Flüssigkeit aufbewahrt wird, getaucht. Durch langsames Hochziehen des Stopfens wird die Maßlösung in die Bürette gesaugt, ohne mit Luft in Berührung zu kommen. — Verf. titrierte mit $CrCl_2$-Lösung unter Dodekan. G. DENK

Ein Rührer zum Gebrauch unter Druck bis 65 cm Hg-Säule, geeignet für Laboratoriumsgeräte aus Glas, wird von V. R. SHELLMAN und B. J. MAGERLEIN[2] beschrieben. G. DENK

Eine Destillationsapparatur aus Pyrexglas, bei der alle Kautschukverbindungen vermieden sind und die zudem sehr bruchsicher ist und störungsfrei arbeitet, beschreibt Y. BERQUIN[3]. Der Apparat besteht aus dem Dampfentwicklungskolben und dem Destillationskolben mit Rückflußkühler, Tropftrichter und Thermometer. Vom Rückflußkühler aus gelangen die Dämpfe in einen senkrecht absteigenden Kühler und nach der Kondensation in die Vorlage. — Die Apparatur ist speziell für die *Bestimmung von Fluor* nach der Methode von H. H. WILLARD und O. B. WINTER[4] — Destillation unter Zusatz von Quarz und Titration mit Thoriumnitrat — gebaut worden (Abbildung im Original). G. DENK

Eine rotierende Destillationseinrichtung, die das Arbeiten bei Atmosphärendruck und im Vakuum gestattet, beschreiben J. E. HAWKINS und W. A. BURRIS[5]. Die Autoren zeigen, daß bei langsamer Destillation und schneller Rotation der Kolonne die Zahl der theoretischen Böden bei etwa 5000 U/min auf etwa das sechsfache gegenüber der Destillation bei nicht rotierender Kolonne gesteigert werden kann. K. BRODERSEN

Einen kontinuierlich arbeitenden Extraktionsapparat für Flüssigkeiten, die schwerer als Wasser sind, beschreiben CH. E. PIERCE und R. E. PETERSON[6]. Mit dem Gerät kann die *Verteilung* eines Stoffes oder Stoffgemisches zwischen Wasser und einer Flüssigkeit, die schwerer als Wasser ist, sehr viel schneller ermittelt werden als mit dem ursprünglich von WEHRLI[7] angegebenen Apparat. Die Verff. haben *Hydrocortison* und *Corticosteroide* mit Dichlormethan aus Wasser extrahiert. Die Kammern des Apparates enthalten Glaskugeln, die sich an der Oberfläche mit einem Film der Lösung überziehen und so die Austauschgeschwindigkeit durch eine größere Grenzfläche zwischen den beiden Flüssigkeiten erhöhen. K. BRODERSEN

Ein Viscosimeter mit konischen Platten beschreibt R. MC KENNELL[8]. Das Viscosimeter hat gegenüber den gebräuchlichen mit koaxialem Zylinder den Vorteil,

[1] Analyt. Chemistry **28**, 2034—2035 (1956). Wright-Patterson Air Force Base, Ohio (USA).

[2] Analyt. Chemistry **28**, 1359—1360 (1956). The Upjohn Co., Kalamazoo, Mich.

[3] Chim. analytique **38**, 367—368 (1956). Société Potasse et Engrais Chimiques, Villeneuve-la-Garenne (Frankreich).

[4] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **5**, 7 (1933); vgl. diese Z. **96**, 213 (1934).

[5] Analyt. Chemistry **28**, 1715 –1725 (1956). Univ. Gainesville, Fla. (USA).

[6] Analyt. Chemistry **28**, 2029—2030 (1956). Nat. Inst. Arthritis und Nat. Inst. Health, Bethesda, Md. (USA).

[7] WEHRLI, S.: Helv. chim. Acta **20**, 927 (1937).

[8] Analyt. Chemistry **28**, 1710—1714 (1956). Ferranti Ltd., Manchester (England).

daß es sich leichter reinigen läßt und daß sich die Bestimmungen der Viscositäten von Flüssigkeiten schneller ausführen lassen. Der Autor weist nach, daß sein Viscosimeter weniger temperaturempfindliche Ergebnisse als ein übliches Viscosimeter liefert. K. Brodersen

Einen automatischen Federmechanismus zum schnellen Verschließen von Reagensgläsern beim Arbeiten (fraktionierte Destillation, Eluieren) mit leicht flüchtigen Stoffen empfehlen J. G. Kirchner und W. L. Stanley[1]. Wie die Abbildung (Abb. 1a u. b) zeigt, besteht der kleine Automat aus einer Kammer, in der Marmorkugeln vorrätig gehalten werden. Durch einen scherenähnlichen Mechanismus kann

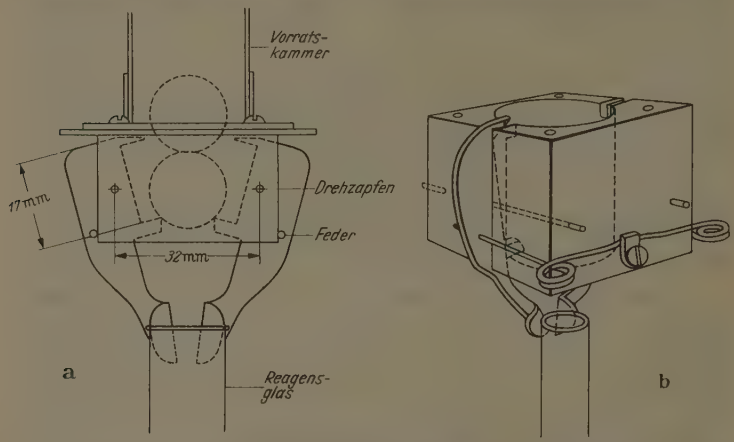


Abb. 1a u. b. Federmechanismus zum Verschließen von Reagensgläsern nach Kirchner u. Mitarb.

jeweils eine Kugel aus dem Vorratskasten entlassen werden, wenn das untere Scherenende mit einem Reagensglas in Bewegung gesetzt wird. Man benutzt am besten Reagensgläser mit schräg angeschnittenem und eingefettetem Rand.
J. Koch

II. Analyse anorganischer Stoffe

Eine hochempfindliche Reaktion auf Wasserstoffperoxyd beschreibt I. L. Roich[2]. Zur Durchführung wird eine Photoplatte mit Thiosulfatlösung vom Bromsilber befreit und dann 2—3 min in ein Gemisch gleicher Volumina 0,8%iger $K_4Fe(CN)_6$- und 0,4%iger $FeCl_3$-Lösung getaucht. Man trocknet die Platte etwa 1 Tag und hält sie zur Prüfung auf H_2O_2 über die zu untersuchende wäßrige Lösung. Die blaue Färbung verdichtet sich an den betreffenden Stellen; die Verdichtung verschwindet von selber nach 6—7 Tagen. Mit dieser sehr empfindlichen Reaktion konnte die Bildung von H_2O_2 bei der Korrosion von Metallen an der Luft nach-

[1] Analyt. Chemistry **28**, 1800—1801 (1956). Western Utilization Res. Branch, Pasadena, Calif. (USA).

[2] Ž. anal. Chim. **11**, 755 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Technolog. Inst., Odessa.

gewiesen werden: eine Farbverdichtung konnte beobachtet werden, selbst wenn die Metalloberfläche (Mg) 7—8 mm von der Indicatorplatte entfernt war. — Die Reaktion kann auch in Tüpfelform ausgeführt werden, indem man 1 Tropfen des obigen Gemisches auf Filtrierpapier aufbringt und das Papier 2 mm über die zu prüfende Lösung hält. Über Perhydrol tritt nach 10 sec, über 0,3%igem H_2O_2 nach 5 min Farbvertiefung auf. A. v. WILPERT

Über die Trennung gewisser Alkali- und Erdalkalikationen durch Elektrochromatographie berichten G. H. EVANS und H. H. STRAIN[1]. Zur Durchführung der Trennungen dient ein mit schwach sauren bzw. alkalischen Lösungen mehrbasischer komplexbildender Säuren [wie *Citronen-(I)* oder *Äthylendiamintetraessigsäure (ÄDTA)*] befeuchtetes Papier. Die Alkalien wandern stets als nicht komplex gebundene Kationen, die Erdalkalien als Anionenkomplexe bzw. als Kationen mit geringerer relativer Geschwindigkeit. — Bei den *Alkalien* ist die Trennung K—Rb -Cs bisher nicht möglich, dagegen gelingt diese äußerst befriedigend bei *Lithium, Natrium und Kalium* (geordnet nach zunehmender Wanderungsgeschwindigkeit). Die elektrochromatographische Methode kann praktische Anwendung bei der Analyse der genannten Elemente in Mineralen, Wässern, Pflanzen und Tieren finden. — Die *Trennung der Erdalkalien* läßt sich am besten ausführen, wenn diese teils als Anionenkomplexe, teils als Kationen vorliegen. So wandern in Diammoniumcitrat (p_H 5,2) *Mg* und *Ca* zur Anode (Mg schneller als Ca) und *Sr* und *Ba* zur Kathode (Ba schneller als Sr; für quantitative Trennungen kann ein Überschneiden der Randzonen durch Verlängerung der Wanderungszeit verringert werden). Liegen neben Erdalkalien Alkalien vor, so folgen im angeführten Medium auf Ba, jedoch deutlich abgesetzt, Li, Na und (K + Rb + Cs). An weiteren Elektrolyten wurden untersucht: Diammonium-ÄDTA (p_H 4,9), das sich praktisch wie das entsprechende Salz von I verhält. Die Reihenfolge bleibt die gleiche in Triammoniumcitrat (p_H 5,9), in einer Mischung aus gleichen Volumteilen von Di- und Triammonium-ÄDTA (p_H 6) sowie in Tri- bzw. Tetraammonium-ÄDTA (p_H 6,7 bzw. 8,7); doch wandern in diesen Medien alle Erdalkalien zur Anode. Während bei p_H 5,9 nur die Zonen von Sr und Ba, bei p_H 6 nur die von Ca und Sr überlagert sind, ist eine Trennung in den beiden zuletzt angeführten Elektrolyten nicht möglich. Für anwesende Alkalien gilt oben Gesagtes. — *Experimentelles.* Die jeweils 0,05 m Elektrolytlösung stellt man entweder durch Zusammenmischen der freien Säuren mit der entsprechenden Menge Ammoniak oder durch Lösen der Ammoniumsalze in dest. Wasser dar und ermittelt deren p_H-Wert mittels Glaselektrode. Die Konzentration (mmol) der zu untersuchenden Ionen — als Chloride eingesetzt — wählt man in Hinblick auf die anschließende Bestimmung mit dem Flammenspektrophotometer: Ba 22,5; Ca und Sr je 7,5; Cs 5; K, Li, Na und Rb je 2,5; Summe: 0,0525 m (bezüglich Mg siehe unten). Das Papier (Eaton-Dikeman 301) wird zunächst vorbehandelt (1 Tag Waschen mit 6 n HNO_3-, 1 Tag mit 10%iger CH_3COOH-Lösung und 2 –3 Tage mit dest. Wasser), dann in Streifen von 5,1 × 140 cm geschnitten, markiert, auf einer Polyäthylenfolie aufgelegt mit Elektrolytlösung gleichmäßig getränkt und mit Polyäthylen bedeckt über Nacht stehen gelassen. Dann entfernt man die Folie, legt die Elektroden (Kernreaktorgraphit CS; 1,27 × 5,08 × 12,7 cm) im Abstand von 110 cm an, pipettiert 60 cm von der Anode entfernt die Probelösung in 25 Portionen (je 10 μl) auf die gekennzeichneten Stellen, bedeckt mit Polyäthylen, befestigt die Platinklemmen eines Simpson-Voltmeters 20 cm von der aufgebrachten Probelösung gegen die Anode und 40 cm gegen die Kathode und legt ein solches Potential (550—800 V) an die Graphitelektroden, daß das Voltmeter 300 V (= 5 V/cm) anzeigt. Die Elektrolysezeit beträgt 3—4 Std, der Strom je nach Grundelektrolyt

[1] Analyt. Chemistry 28, 1560—1563 (1956). Argonne Nation. Lab., Lemont, Ill.

5—50 mA. Erhitzen der Streifen läßt sich mittels Ventilator vermeiden. Nach Beendigung werden die Streifen in Zentimeterstücke zerschnitten und diese in Reihenfolge über Nacht in 10 ml Wasser enthaltende Zentrifugenröhrchen gelegt. Die erhaltenen Lösungen werden zentrifugiert und mit einem Beckman Flammenspektrophotometer Modell DU (ausgestattet mit einer Sauerstoff/Acetylenflamme und mit einem Photomultiplier für Wellenlängen < 625 mμ) gemessen. Die Spaltbreite variiert von 0,01 mm für Sr bis 0,26 mm für Rb. Gemessen wird die Durchlässigkeit bei folgenden Wellenlängen (mμ): Ba 553; Ca 622; Cs 853,1; K 768; Li 670,8; Na 589; Rb 780 und Sr 460,7. Bei den getrennt durchgeführten Versuchen mit Mg und Ba wurden je 100 μl 50 mmol Lösungen aufgebracht und nach Wanderung die Ba-Zone mit einer frisch bereiteten Natriumrhodizonatlösung, die Mg-Zone mit einer alkoholischen Oxinlösung und anschließend mit Ammoniak besprüht und letztere im UV mittels Fluorescenz identifiziert. Nelly Konopik

Kalium. A. S. Kozlov[1] beschreibt ein Bestimmungsverfahren, das auf der Fällung des Kaliums als sehr schwerlösliches Doppelsalz der Zusammensetzung $5\,Cd_2Fe(CN)_6 \cdot 4\,K_4Fe(CN)_6$ *und Titration des Überschusses an Cyanoferrat(II)* in der Mutterlauge beruht. Die Bestimmung dauert 25—30 min. Sie ist an Salzgemischen von Natriumchlorid mit 20—30% KCl erprobt worden. Hier betragen die Abweichungen von den nach der Perchloratmethode erhaltenen Ergebnissen nicht mehr als 0,2—0,3%. — *Analysengang.* In einen 250 ml-Meßkolben bringt man die zu analysierende Lösung, 10 ml einer 0,1 m $Ca(NO_3)_2$-Lösung (zur besseren Koagulation des Niederschlages), 20 ml 0,1 m $CdSO_4$-Lösung und Wasser bis auf etwa 200 ml. Dann setzt man unter ständigem Schütteln 20 ml 0,1 m Natriumhexacyanoferrat(II)-lösung zu, schüttelt 1 min energisch, füllt bis zur Marke auf und schüttelt wieder. Nach 5—10 min ist die Koagulation beendet und man zentrifugiert bei 800—1000 Umdrehungen/min. Zu 200 ml des Zentrifugats setzt man 10 ml konz. Schwefelsäure, 4 g Ammoniumsulfat, 2—3 Tropfen 1%-ige Kaliumcyanoferrat(III)-lösung und 2—3 Tropfen Diphenylaminindicator; dann titriert man mit 0,05 m Zinksulfatlösung, bis die Lösung fliederfarben ist. Die überschüssige Zinksalzlösung (nicht mehr als 1—2 ml) titriert man mit 0,033 m $K_4Fe(CN)_6$-Lösung zurück, bis die Fliederfarbe verschwunden ist und die graue Farbe scharf in ein grünliches Weiß übergeht. — NaCl stört nicht, wenn in der Probe nicht mehr als 0,3 g enthalten sind. Erdalkalien, Li, Mg, Al stören ebenfalls nicht. Es stören aber Ammonium, Rubidium, Cäsium und Schwermetalle, die mit Cyanoferrat reagieren. W. Böhm

Zur Bestimmung von Ultramikromengen Kupfer nach papierchromatographischer Entwicklung beschreiben A. Lacourt und P. Heyndryckx[2] drei Verfahren, die zugleich zur quantitativen Abtrennung von Kobalt und Zink benutzt werden können. Die drei Verfahren sind die Titration mit 0,01 m Äthylendiamintetraacetatlösung (ÄDTA-Lösung) unter Verwendung von Murexid als Indicator, die Photometrie im weißen Licht und schließlich die direkte Spektrophotometrie. Die Methoden eignen sich als Endbestimmung nach dem Chromatographieren. Man entwickelt mit einer acetonischen Lösung von Rubeanwasserstoffsäure zur Bestimmung der Kupferkonzentration aus nicht chromatographierten Flecken. — Da die chromatographische Entwicklung nur 45 min dauert und zudem 8 verschiedene Proben gleichzeitig aufgegeben werden können, ergibt sich eine schnelle Arbeitsweise. Die Nachweisgrenze der Titrimetrie liegt in der Größenordnung von 3 μg, bei den beiden anderen Verfahren reicht sie bis 0,1 μg. Die Reprodu-

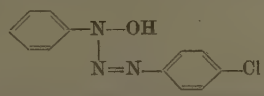
[1] Zavodskaja Laborat. **23**, 157—159 (1957) [Russisch]. Staatl. Lomonosov-Univ. Moskau.

[2] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1621—1648. Freie Univ. Brüssel (Belgien).

zierbarkeit der Photometrie liegt zwischen 0,5 und 3% für Konzentrationen zwischen 10 und 0,1 μg, wobei auch ein 500facher Überschuß an Kobalt oder Zink nicht stört, da beide Elemente quantitativ chromatographisch abgetrennt werden. Die Verwendung einer Korrektur unter Berücksichtigung des ungetüpfelten Papieres stößt in der Photometrie auf Schwierigkeiten. Die Reproduzierbarkeit der spektrophotometrischen Bestimmung, die den anderen beiden Verfahren überlegen ist, schwankt zwischen 0,09 und 1,08% für Kupfermengen von 3—0,1 μg. Die Messung des kupferfreien Papieres ist sehr gut reproduzierbar, so daß eine ganze Meßreihe darauf bezogen werden kann. Die Apparatur ist die gleiche wie zur Kobaltbestimmung[1]. Der das Kupfer enthaltende Papierstreifen wird an die Innenseite einer 1 cm-Beckman-Küvette justiert, in die zur besseren Lichtdurchlässigkeit eine Flüssigkeit (z. B. bidest. Wasser) eingefüllt wird. Die Entwicklung des Kupferkomplexes mit Rubeanwasserstoffsäure geschieht folgendermaßen: Der Kupferfleck auf Whatman Nr. 4-Papier, das auf 52% Feuchtigkeit gebracht ist, wird 15 min unter einer Infrarotlampe eingetrocknet. Dann werden beide Seiten zunächst mit Aceton, darauf mit einer acetonischen 0,25%igen Lösung von Rubeanwasserstoffsäure bedampft. Nach erneutem 10minutigem Trocknen bedampft man wieder mit ammoniakalischer Acetonlösung (1 vol-%ig an konz. Ammoniak), trocknet erneut 10 min mit Infrarotstrahlung und mißt nach 15 min bei 660 mμ. Der Nullpunkt der Durchlässigkeitsskala wird auf die Durchlässigkeit des weißen Papieres eingestellt. Alle Einzelheiten der Verfahren sind in der Originalarbeit sehr ausführlich behandelt.

D. Jentzsch

3-Hydroxy-1,3-diphenyltriazin (HDPT) als Kupfer- und Nickelreagens, und 3-Hydroxy-1-p-chlorophenyl-3-phenyltriazin (HCPT) als Titanreagens. N. C. Sogani und S. C. Bhattacharyya[2] teilen im Anschluß an eine frühere Arbeit[3] mit, daß HDPT außer zur Pd-Bestimmung bei $p_H < 3$ auch zur gravimetrischen Cu-Bestimmung und bei höheren p_H-Werten (4,5 –7,0) zur Ni-Bestimmung dienen kann. Im letzten Fall ist das Reagens allerdings wenig selektiv. Die Selektivität des neuen Kupferreagenses ist aber größer als die von Salicylaldoxim und α-Benzoinoxim. Störend wirken Pd^{II}, V^{IV}, V^{V}, Ag, Au^{III}, Os^{IV} und Cyanid. — *Titan(IV)* wird von dem Reagens ebenfalls quantitativ gefällt; der Niederschlag kann jedoch durch Zusatz von 5% Alkohol in Lösung gebracht werden. *Zur Titan(IV)-Bestimmung* verwenden die Autoren HCPT



welches mit Titan(IV)-Lösungen einen orangefarbenen Niederschlag ergibt, der bis 100° C stabil ist. Man verglüht anschließend zum TiO_2 und wägt (der Titankomplex besitzt keine definierte Zusammensetzung). Die Titanbestimmung gelingt nicht in Gegenwart von Zr^{IV}, Tl, Ce^{IV}, Cu^{II}, Pd^{II}, Fe^{II}, Fe^{III}, Mo^{VI}, V^{V}, W^{VI}, Sb^{III}, Bi^{III}, Phosphat, Fluorid, Tartrat. Die Filtrierbarkeit der Fällungen ist ausgezeichnet. Die Komplexe lösen sich in Benzol, Tetrachlorkohlenstoff und Chloroform. — *Ausführung der Kupferbestimmung*: 25 ml der 10—25 mg Cu enthaltenden Probelösung werden mit 5 ml 10%iger Natriumacetat- und 5 ml 10%iger Natriumtartratlösung versetzt; nach der Zugabe von 1 n Salzsäure und 95%igem Alkohol fügt man unter Rühren eine 1%ige alkoholische Lösung des Reagenses zu und versetzt anschließend mit 120—130 ml heißem Wasser. Der p_H-Wert soll zwischen 2,3

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1389; vgl. diese Z. **154**, 369 (1957).

[2] Analyt. Chemistry **28**, 1616—1618 (1956). Gov. College, Ajmer, und Nat. chem. Lab., Poona (Indien).

[3] Vgl. Fußnote [1], S. 126.

und 3,0 liegen. Man läßt etwa 1 Std unter gelegentlichem Rühren auf dem Wasserbad stehen, filtriert, wäscht zweimal mit 0,5%iger Salzsäure und fünf bis sechsmal mit heißem Wasser, trocknet bei 120—125° C 45 min lang und wägt. Faktor auf Cu = 0,1303. — Zur Trennung des Kupfers von Ce^{IV} verfährt man wie bei den Pd-Trennungen[1], Zr^{IV}, Fe^{II}, Fe^{III}, Ti^{IV}, Sn^{IV}, Mo^{VI} werden durch wenig (etwa 0,5 g) NaF oder KF maskiert. (Die Fluoride sind auch bei Trennungen des Palladiums von Ti^{IV}, Sn^{IV} und Mo^{VI} anwendbar.) — *Ausführung der Titanbestimmung*: Man versetzt 10 ml der Titanlösung mit 4 ml 1 n Salzsäure und 5 ml 10%iger Natriumacetatlösung, um den p_H-Wert auf 2,3 zu bringen. Durch Zugabe einer heißen, methanolischen 1%igen Reagenslösung (Chlorderivat) wird gefällt, mit 200 ml heißem Wasser verdünnt und 1—2 Std auf dem Wasserbad gelassen. Nach dem Filtrieren wäscht man mit heißem Wasser Chlor- und Sulfat-Ionen heraus, trocknet 15 min bei 105° C und verglüht im Platintiegel zu Titandioxyd. K. Brodersen

Zur spektralphotometrischen Magnesiumbestimmung teilen Ch. K. Mann und J. H. Yoe[2] ein neues Verfahren mit. Als Farbreagens verwenden sie 1-Azo-2-hydroxy-3-(2,4-dimethylcarboxanilido)-naphthalin-1′-(2-hydroxybenzol). Die Bestimmung erfolgt in wäßrig-äthanolischer mit Borax gepufferter Lösung (p_H 8,95). Das Reagens ist in saurer und stark alkalischer Lösung rot, in neutraler und schwach basischer, in Borax gepufferter Lösung blau mit dem Absorptionsmaximum bei 620 mμ. Der Magnesiumkompelx ist lachsrot und besitzt zwei Maxima bei 505 und 535 mμ. Unter den Verfahrensbedingungen ist die Extinktion bei 505 mμ der Mg-Konzentration proportional. Im anwendbaren Konzentrationsbereich des Verfahrens von 0,02—0,4 ppm Magnesium ist eine Korrektur wegen der Eigenfarbe des Reagenses nicht notwendig. Die Farbe des Komplexes ist mehrere Stunden stabil. Temperatureinflüsse im normalen Rahmen werden nicht beobachtet. Störend wirken Fremdionen, wie Fe^{2+}, Fe^{3+}, Cu^{2+} und Al^{3+}, die mit dem Reagens reagieren. Ca^{2+} und Sr^{2+} stören nur in größeren Konzentrationen aus Löslichkeitsgründen (äthanolisches Medium!). Bei Magnesiumkonzentrationen von 0,040, 0,20 bzw. 0,40 ppm beträgt die relative Standardabweichung ohne Korrektion 7,5, 4,0 bzw. 2,2% Mg, mit Korrektion für überschüssiges Reagens 9,0, 3,6 bzw. 2,3% Mg. — *Arbeitsweise.* 5 ml Reagenslösung (0,10 mg/ml in Äthanol) werden mit einem 0,5 bis 10 μg Mg enthaltenden aliquoten Anteil der Magnesiumlösung (2—15 ml), die zuvor gegen Phenolphthalein gerade schwach sauer eingestellt wird, in einen 25 ml-Kolben gefüllt. Nach Zugabe von 0,5 ml Boraxpuffer (0,08 m Boraxlösung) wird mit 95%igem Äthanol zur Marke aufgefüllt und geschüttelt. Die maximale Farbintensität tritt sofort ein. Man mißt die Lösung bei 505 mμ gegen destilliertes Wasser in 1 cm-Küvetten (Beckman Spektralphotometer Modell DK 2 und Modell D). Die Mg-Konzentration entnimmt man einer zuvor aufgestellten Eichkurve. Für neu angesetzte Reagenslösungen stellt man sich vorteilhaft eine neue Eichkurve her.

H. Specker

Über die amperometrische Titration von Zink, Kobalt und Kupfer mit Kaliumtetrarhodanomercurat (II) haben V. A. Chadejev und A. I. Mirbadaleva[3] Untersuchungen angestellt. Die Versuche zeigen, daß man *Zink* und *Kobalt* sehr wohl mit Kaliumtetrarhodanomercurat (II) (KtM, nach I. M. Kolthoff und H. C. van Dijk[4]

[1] Sogani, N. C., und S. C. Bhattacharyya: Analyt. Chemistry **28**, 81 (1956); vgl. diese Z. **152**, 369 (1956).

[2] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **16**, 155—160 (1957). Univ. Austin 12, Texas u. Univ. Charlottesville, Virg. (USA).

[3] Ž. anal. Chim. **11**, 710—713 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Zentralasiat. Lenin-Univ., Taschkent.

[4] Pharm. Weekbl. **58**, 538 (1921); vgl. diese Z. **61**, 418 (1922).

aus KCN und Hg-Rhodanid dargestellt) amperometrisch titrieren kann. Als Anode dient das Kalomel-Halbelement, als Kathode die Hg-Tropfelektrode oder ein rotierender (800 U/min) Pt-Draht (1 mm lang, in Glas eingeschmolzen). Die Titrationskurven sind abfallend-ansteigend, wenn bei einer angelegten Spannung von etwa 1,4 V titriert wird, oder waagerecht-ansteigend, wenn bei 0,8—0,9 V titriert wird. Polarographische Maxima werden durch Anlegen einer Spannung von mehr als 0,7 V unterdrückt. Es ist nicht erforderlich, den gelösten Sauerstoff (durch einen H_2-Strom) zu entfernen. Als Grundlösung können für die Zinkbestimmung Nitrate und Sulfate der Alkalien sowie Schwefel- oder Salpetersäure in bis zu 1 molarer Konzentration dienen. Die Kobaltbestimmung erfolgt in 0,3 m Na_2SO_4- oder 0,3 m H_2SO_4-Lösung. Chloride, Acetate, Rhodanide, Erdalkalien, Al^{3+}, Cr^{3+} und Fe^{3+}, desgleichen kleine Mn-Mengen (10% der Zn-Menge) stören nicht. Ein störender Einfluß von Fe^{3+} (dem Mn-Einfluß gleich groß) wird durch Zusatz von $^1/_2$—1 ml konz. Phosphorsäure verhütet, die an sich nicht stört, jedoch Anomalien verursachen kann, die wiederum durch Zusatz von KCN bis 0,2 –0,3 n beseitigt werden. In Anwesenheit von Fe^{2+} werden bei mit Zn gleicher Konzentration um 30% zu hohe Resultate erhalten, bei 2% Fe (vom Zn-Gehalt) sind die Titrationsergebnisse für Zn zufriedenstellend. — *Kupfer* läßt sich nicht befriedigend titrieren; der Niederschlag hat keine konstante Zusammensetzung und die Ergebnisse sind zu niedrig. — Ein Zusatz von Alkohol oder Aceton bei der Zn-Titration empfiehlt sich nicht.

A. v. Wilpert

Cadmium. N. Tanaka, I. T. Oiwa und M. Kodama[1] studieren die *amperometrische und potentiometrische Titration von Cadmium mit Äthylendiamintetraessigsäure* an der Hg-Tropfelektrode als Indicatorelektrode, besonders in Hinblick auf die exakte Ermittlung des Äquivalenzpunktes. *a) Amperometrische Bestimmung.* Als Meßgerät dient ein gewöhnlicher Polarograph, als Bezugselektrode die gesätt. Kalomelelektrode. Zum Entlüften und Rühren wird gereinigter Stickstoff verwendet. — Man bringt 50 ml Acetatpufferlösung (p_H 4,2) mit 0,2—10 Millimolen Cd je Liter mittels KNO_3 auf eine Ionenstärke von 0,1, entlüftet und titriert mit 10—100 mmol Maßlösung bei — 0,7 V in Anwesenheit von 0,001% Gelatine auf ± 0,5% oder besser (L-Kurve). Gelatinezusatz ist erforderlich, damit experimentell beobachteter Endpunkt und Äquivalenzpunkt übereinstimmen. In Abwesenheit von Gelatine tritt ein kinetischer Strom auf (verursacht durch Dissoziation des Cd-Komplexes an der Elektrodenoberfläche), wodurch der experimentelle Endpunkt *nach* dem Äquivalenzpunkt gefunden wird. — *b) Potentiometrische Bestimmung bei konstantem Strom.* Gemessen wird mit einem Gerät, das dem von R. N. Adams[2] verwendeten ähnlich ist. Die Titrationen werden unter den in a) beschriebenen Bedingungen ausgeführt, jedoch in Anwesenheit von 0,01% Gelatine. Der konstant angelegte Strom variiert zwischen 0,5 und 1,5 μA. Wie schon von I. M. Kolthoff[3] beobachtet, findet man den experimentellen Endpunkt *vor* dem Äquivalenzpunkt, und zwar um so mehr, je niedriger die Anfangskonzentration an Cd bzw. je größer der angelegte Strom ist. Aus den am experimentellen Endpunkt (gewählt wird hierfür das Potential von — 0,7 V) verbrauchten v ml Maßlösung läßt sich die Anfangskonzentration C an Cd nach $C = (i_a - i_r)/k \cdot (V + v)/V + cv/V$ berechnen, worin i_a der konstant angelegte Strom, i_r der Reststrom bei — 0,7 V, k die Empfindlichkeit der Elektrode (i_r und k sind aus Stromspannungskurven zugänglich), V das Anfangstitrationsvolumen und c die Molarität der Maßlösung bedeuten. Der Fehler beträgt bei einem konstanten Strom von 0,5 μA etwa ± 0,3% und vergrößert sich bei einem Strom von 1,5 μA auf etwa — 1%.

Nelly Konopik

[1] Analyt. Chemistry **28**, 1555—1559 (1956). Tohoku Univ. Sendai (Japan).
[2] Analyt. Chemistry **26**, 1933 (1954); vgl. diese Z. **148**, 138 (1955/56).
[3] Analyt. Chemistry **26**, 1685 (1954); vgl. diese Z. **148**, 117 (1955/56).

Quecksilber. A. G. Morris[1] beschreibt eine absorptiometrische Methode der Quecksilberbestimmung auf Grund der mit „*Zincon*“ (*2-Carboxy-2′-hydroxy-5′-sulfoformazylbenzol*) entstehenden Blaufärbung, deren Absorptionsmaximum bei 600 mμ liegt. Die Einmeßkurve wird mit steigenden Mengen Quecksilber(II)-chloridtestlösung unter den gleichen Bedingungen aufgestellt und ist von 100 bis 400 μg gradlinig. Die Färbung ist bis 2 Std konstant. Zn^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+}, Sb^{3+}, Sn^{2+}, Bi^{3+}, Mn^{2+}, Co^{2+} und CN^- stören schon sehr, wenn sie in gleichem Verhältnis anwesend sind, da diese mit dem Reagens ebenfalls stark gefärbte Verbindungen bilden. Mg^{2+}, Ni^{2+}, As^{3+} stören, wenn sie im 10fachen Überschuß, Al^{3+}, Pb^{2+}, Fe^{3+}, Sn^{4+}, Sb^{5+}, Ca^{2+}, wenn sie im 100fachen Überschuß zugegen sind und NH_4^+ stört, wenn es im 1000fachen Überschuß vorhanden ist. Kleinste Hg^{2+}-Mengen erkennt man in der Pufferlösung an der leichten Verfärbung nach Grau beim Vergleich mit der Reagenslösung. — *Ausführung.* Ein aliquoter Teil der Probelösung (mit 100 bis 400 μg Hg^{2+}) wird mit 0,1 n Salzsäure oder 0,1 n Natronlauge auf einen p_H-Wert von 7,2 gebracht, nach dem Überführen in einen 50 ml-Meßkolben mit 3 ml „Zincon“-Reagenslösung (0,13 g Zincon in 2 ml 1 n Natronlauge lösen und auf 100 ml mit Wasser verdünnen) versetzt und mit Pufferlösung vom p_H-Wert 7,2 (13,616 g KH_2PO_4 und 69,8 ml 1 n Natronlauge auf 2 l) bis zur Marke aufgefüllt. Die Messung des blauen Komplexes erfolgt gegen einen Blindansatz bei 600 mμ in 10 mm Schichtdicke. H. Pohl

Eine spektrophotometrische Bestimmung von Thallium läßt sich nach D. Peschanski[2] durch Messung der Absorption des komplexen Ions $[TlCl_6]^{3-}$ durchführen. Die Absorption, deren Maximum bei 2400—2600 Å liegt, ist in 6 n salzsaurer Lösung zwischen $5{,}5 \cdot 10^{-2}$ und 10^{-6} m proportional der Konzentration. Als Vergleichslösung dient 6 n Salzsäure. Tl^I wird durch Chlor oxydiert. Organische Substanzen werden vorher mit Überchlorsäure oder Schwefelsäure, nicht Salpetersäure, mineralisiert. G. Denk

Seltene Erden. G. Brunisholz und R. Cahen[3] teilen in Ergänzung zu ihrer früheren Arbeit[4] *über die komplexometrische Bestimmung der Seltenen Erden* mit, daß Urotropin besser als Puffersubstanz geeignet ist, als das früher empfohlene Gemisch aus Essigsäure und Ammoniumacetat. — *Ausführung.* Die schwach saure, etwa 0,01 m Lösung der Chloride oder Nitrate der Seltenen Erden versetzt man mit 2—3 g Urotropin und einigen Tr. einer alkoholischen Lösung von Eriochromschwarz T[5] und titriert mit einer 0,01 m Ammoniumäthylendiamintetraacetatlösung bis zum Umschlag nach Blau. Bei Gegenwart von Ce fügt man zur Verhinderung der Oxydation etwa 10 mg Ascorbinsäure oder Hydroxylammoniumchlorid hinzu. Die meisten mehrwertigen Metallionen stören, Fe^{3+} kann jedoch bis zu 0,3 mg vorhanden sein, allerdings darf dann kein Reduktionsmittel zugegeben werden. G. Denk

B. K. Preobraženskij, O. M. Lilova, A. N. Dobronravova und J. D. Teterin[6] berichten *über die Trennung der Seltenen Erden durch Ionenaustausch.* Zu den Trennungsversuchen wird der Kationenaustauscher Dowex 50 (Korngröße $\sim 15\,\mu$) in einer Säule von 2 mm ⌀ und 5—10 cm Länge verwendet (für schwierigere

[1] Analyst **82**, 34—37 (1957). Hopkins & William Ltd., (England).

[2] Bull. Soc. chim. France **1956**, 1574. Faculté des Sciences, Paris.

[3] Helv. chim. Acta **39**, 2136—2137 (1956). Univ. Lausanne (Schweiz).

[4] Brunisholz, G., u. R. Cahen: Helv. chim. Acta **39**, 324 (1956); vgl. diese Z. **153**, 201 (1956).

[5] Stabile Lösung nach E. M. Diskant, vgl. diese Z. **141**, 52 (1954).

[6] Ž. neorg. Chim. **1**, 2294—2299 (1956) [Russisch]. Akad. d. Wiss. Leningrad.

Trennungen wie La-Yb und Gd-Eu empfiehlt sich eine 15—20 cm lange Säule). Der Austauscher wird zunächst durch Auswaschen mit 6 n NH_4SCN-Lösung von Fe^{III}, mit 6 n Salzsäure und Wasser von anderen Verunreinigungen befreit. Dann wird das Harz mit NH_3 oder NH_4-Lactat, -Citrat oder -Tartrat in die NH_4^+-Form übergeführt, anschließend wird die Säule auf 90° C erhitzt. Als Eluent dient eine mit gasförmigem NH_3 fast neutralisierte 6 m Milchsäurelösung (Indicator Bromkresolpurpur, p_H 5—6), die durch Zugabe von Phenol bis zur Konzentration 0,01 m haltbar gemacht wird. Die Elution erfolgt bei 90° C. Es eluieren nacheinander: La-Yb-Tu-Er-Ho-Dy-Tb-Gd-Eu-Pm-Ce, die z. T. voneinander scharf getrennt sind. Die Eluate wurden radiometrisch untersucht. Enthält die Prüfsubstanz nur eine radioaktive Seltene Erde, so kann man durch Zugabe der entsprechenden radioaktiven Lösung der Seltenen Erde diese radioaktive Beimengung bestimmen, da dann nur ein einziges Kurvenmaximum auftritt. Man kann sie auch durch Bestimmung der Eluierungsfolge, durch Massenspektralanalyse oder aus der Zerfallskonstante bestimmen. — Die radiochemische Analyse aller Seltenen Erden dauert etwa 3 Std. Die Ergebnisse sind befriedigend. A. v. Wilpert

Germanium. Z. F. Šachova und R. K. Motorkina[1] empfehlen die photometrische Germaniumbestimmung als Germano-Vanado-Molybdänsäure, die vor dem Bestimmungsverfahren des Germaniums als Germanomolybdänsäure gewisse Vorzüge besitzt. Ein Versuch, die Empfindlichkeit der Bestimmung durch Extraktion mit Isoamylalkohol zu steigern, führte nicht zum Erfolg, da das organische Lösungsmittel den Reagensüberschuß mit extrahiert. — *Ausführung.* Es werden zwei Arbeitsvorschriften gegeben: *I.* Zu 0,01—1 mg GeO_2 werden 0,5 ml 5%iger NH_4-Molybdatlösung und 0,05—0,12 ml 2 n Schwefelsäure (bis zur Konzentration 0,2 n) zugegeben. Nach 10 min ist die gelbe Farbe voll entwickelt, man setzt nun 5 ml 2%iger $NaVO_3$-Lösung (mit 2 n H_2SO_4 gegen Methylorangepapier neutralisiert) und 0,8 ml 2 n H_2SO_4 hinzu und siedet 1—2 min. Man erhitzt dann 30 min auf dem Wasserbad, filtriert den dunkelbraunen Vanadiumniederschlag ab und wäscht 3—4mal mit 10%iger NH_4Cl-Lösung nach. Filtrat und Waschflüssigkeit werden auf 40 ml verdünnt, die optische Dichte wird bei 400 mμ gemessen (Spaltbreite 0,069 mm, Schichtdicke 10 mm). Die Auswertung erfolgt aus der Eichgeraden; bei höherem Ge-Gehalt empfiehlt sich ein längeres Auswaschen (6—7mal), um Verluste infolge Absorption der Heteropolysäure zu verhüten. — *II.* Bei diesem bequemeren Verfahren werden Ammoniumsalze zweckmäßig vermieden. Zur Herstellung des Reagenses löst man 40 g Na-Molybdat in 120 ml Wasser und ebenso 6 g $NaVO_3$ in 80 ml Wasser; die Lösungen werden einzeln filtriert und im Verhältnis 30 ml der ersten mit 20 ml der zweiten Lösung vermischt. Man setzt konz. Salzsäure hinzu und verdünnt auf 100 ml. 5 ml dieser Lösung fügt man zur Prüflösung, verdünnt das ganze auf 40 ml und colorimetriert wie oben, jedoch wegen der langsameren Farbentwicklung erst nach 20—25 min. Der Zusatz an konz. Salzsäure wird so berechnet, daß die Säurekonzentration beim Colorimetrieren 0,20—0,28 n beträgt. Das Reagens hält sich nur 1—2 Tage (Ausscheidung eines gelben Niederschlages). Die Gelbfärbung der Ge-V-Molybdänsäure ist bedeutend intensiver als jene mit Ge-Molybdänsäure allein.

R. K. Motorkina[2] synthetisierte 4 Heteropolysäuren des Germaniums und untersuchte ihre Stabilität in Abhängigkeit vom p_H-Wert. Die Analyse dieser Verbindungen wurde wie folgt durchgeführt. 1. *Germanowolframsäure.* Das Präparat

[1] Ž. anal. Chim. 11, 698—703 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zusammenfassung.) Lomonosov-Univ., Moskau.

[2] Ž. neorg. Chim. 2, 92—105 (1957) [Russisch]. Lomonosov-Univ., Moskau.

wurde bei 150° C getrocknet und das Ge als Magnesiumorthogermanat nach Hillebrand-Lundell bestimmt; im Filtrat wurde das W als WO_3 mit Cinchonin gefällt. — 2. *Germanomolybdänsäure.* Das Ge wurde colorimetrisch bestimmt, indem man 0,1—0,5 ml Prüflösung und Vergleichslösungen von bekanntem Gehalt mit 10 ml 5%iger NH_4-Molybdatlösung und 2 ml 4 n Schwefelsäure versetzte, die Lösung auf 40 ml verdünnte und die Extinktion bei 400 mμ maß. Die Bestimmung des Molybdäns erfolgte als Oxinat nach dem Zerstören der Heteropolysäure durch Alkali und Abscheiden des Germaniums, Lösen in einem großen Überschuß an Salzsäure und Eindampfen. — 3. *Germano-Vanado-Molybdänsäure.* 10 ml der Prüflösung wurden mit 0,5 g festem NaOH zersetzt (Entfärbung bei Erwärmung), dann wurde Salzsäure zugegeben und das $GeCl_4$ abdestilliert; im Destillat wurde Ge mit Tannin nach Alimarin bestimmt. Zum Destillationsrückstand wurden 50 ml H_2SO_4 (1 : 1) zugegeben und bis zum Rauchen eingedampft. Das reduzierte V wurde mit 3—4 g festem NH_4-Persulfat reoxydiert, der Überschuß des Oxydanses durch 25—30 min Sieden entfernt, die Lösung wurde auf 25—30 ml eingedampft, dann auf 100 ml aufgefüllt. Zur Bestimmung des Mo und V wurden aliquote Portionen der Lösung entnommen und nach dem von V. S. Syrokomskij und Ju. W. Klimenko[1] beschriebenen Verfahren geprüft. — 4. *Germano-Vanado-Wolframsäure.* 25 ml der Prüflösung wurden unter Erwärmung mit 0,5—1 g festem NaOH zersetzt, $GeCl_4$ mit Salzsäure destilliert und mit Tannin bestimmt. Im Destillationsrest wurde das W mit Cinchonin nach Dymov bestimmt, das Filtrat nach dem Abscheiden der Wolframsäure wurde bis zum Auftreten der SO_3-Dämpfe (zwecks Entfernung von Chlor) eingedampft, V wurde mit NH_4-Persulfat oxydiert, der Überschuß des Oxydanses durch Sieden zerstört. Nach Auffüllen auf 100 ml wurde das V in einem aliquoten Teil der Lösung mit Mohrschem Salz unter Verwendung von Phenylanthranilsäure (als Indicator) titriert. A. v. Wilpert

Trennung von Zirkonium und Hafnium. L. A. Niselson[2] beschreibt ein Trennungsverfahren durch Rektifikation der Reaktionsprodukte, die aus den Tetrachloriden der Metalle durch Einwirkung von $POCl_3$ entstehen. Die Zusammensetzung der Reaktionsprodukte entspricht nahezu der Formel $3\ MeCl_4 \cdot 2\ POCl_3$ (Me = Zr oder Hf). Das Zr-Produkt siedet bei 360° C, das Hf-Produkt bei 355° C. Theoretische Überlegungen ergeben, daß die Bildung azeotroper Gemische ausgeschlossen ist. Durch einfache Destillation könnte ein Hf-freies Zr-Präparat nur in verschwindender Ausbeute gewonnen werden. Eine Destillation mit einem Apparat von 50 theoretischen Böden ergäbe bei einer Bödendifferenz von 150 mm eine Kolonnenhöhe von 7,5 m. — Es wurden einige praktische Versuche mit einer Kolonne von 50 Siebböden (Länge 140 cm) durchgeführt, deren Aktivität 34—36 theoretischen Böden entsprach. Die Ergebnisse dieser Versuche lagen recht dicht nebeneinander. Bei einem dieser Versuche konnten 23,8% des Zr, bei einem zweiten 38,2% des Zr fast Hf-frei abdestilliert werden: statt ursprünglich 1% Hf enthielten die gewonnenen Fraktionen weniger als 0,005% Hf (bestimmt durch Spektralanalyse nach Zersetzung mit NaOH und Verglühen der Dioxyde). — Die Verwendung von Kolonnen mit Glasaufsatz (unbenetzbar für die Destillate) empfiehlt sich nicht (die Aktivität eines solchen Apparates entspricht nur etwa 3—4 theoretischen Böden statt der berechneten 37). Für das Verhältnis der relativen Flüchtigkeiten der beiden Produkte wird für Atmosphärendruck der Wert 1,150—1,155 (statt des angenommenen 1,140) erhalten. Das Verfahren führt daher zu einer brauchbaren Trennung. A. v. Wilpert

[1] Vanadatometrie, Sverdlovsk-Moskau 1950.

[2] Ž. neorg. Chim. 1, 2657—2669 (1956) [Russisch]. Kalinin-Inst. für Buntmetalle und Gold, Moskau.

Thorium. D. I. Rjabčikov, V. K. Beljajeva und A. N. Jermakov[1] haben Untersuchungen über die *Anwendung der Phytinsäure (des Hexaphosphorsäureesters des Mesoinosits) in der analytischen Chemie des Thoriums* angestellt. Danach werden durch Phytinsäure (PhS) [mittels Ionenaustauch aus dem Handels-Phytin mit dem Kationit „KU-2" (in der H-Form) erhalten] in neutralen Lösungen fast alle Metalle, ausgenommen die Alkalimetalle, gefällt. In 1 n Salpetersäure erhält man jedoch Niederschläge nur mit Ti, Zr, Hf, Th, Ce^{IV}, Nb, U, Sc, In, Sn^{IV} und Fe. In 1 n Salzsäure fallen In und Sn^{IV} nicht aus. Sn^{IV} und Fe bilden mit PhS in > 2 n HNO_3 keine Niederschläge mehr, jedoch werden in 12 n HNO_3 immer noch Ti, Zr, Hf, Th, Ce^{IV}, In und Sc gefällt. — Die eingehende Untersuchung der quantitativen Abscheidung des Thoriums ergibt, daß ein 6facher Überschuß an PhS praktisch den Th-Niederschlag nicht löst, erst bei 8facher Überschuß gehen 2% des Th in Lösung. Der Niederschlag hat nach dem Glühen bei 1100° C die Zusammensetzung $ThO_2 \cdot 2\,P_2O_5 = Th(PO_3)_4$ (Th-Metaphosphat) mit 42,9% Th. Der ungeglühte Niederschlag, bei 105—110° C getrocknet, enthält 3 Th auf 2 PhS-Reste. Die Th-Fällung erfolgt aus etwa 6 n salpetersaurer Lösung. Die Seltenen Erden werden praktisch durch eine einzige Fällung vom Thorium getrennt (nur beim Verhältnis Th : Me = 1 : 3 können bis 0,3% der SE im Niederschlag enthalten sein). Zr, Ti, U und Fe werden am besten durch Zusatz von Oxalsäure in Lösung gehalten, doch kann die Mitfällung von Ti auch durch Zugabe von H_2O_2, die Uranfällung durch Fällen aus 6 n salzsaurer Lösung verhindert werden. Al und Ca stören nicht. Das Phytinverfahren steht der Jodatmethode an Genauigkeit nicht nach: die Fehler betragen ± 0,1% absolut (bei 4—7% Th im Monazit sind das etwa 2% relativ), die Analyse dauert jedoch nur die Hälfte der Zeit, die das Jodatverfahren benötigt. — *Thoriumbestimmung in Monazitkonzentraten.* Man löst die Einwaage (10 g) wie üblich in H_2SO_4, laugt mit Eiswasser (500—600 ml) aus, füllt mit konz. HNO_3 zum Liter auf, setzt zu 100 ml dieser Lösung 1—2 ml Perhydrol, erwärmt und fügt 25 ml 10%ige Oxalsäurelösung hinzu. Th wird mit 5 ml 4%iger PhS-Lösung gefällt. Nach 15 bis 20 min wird zentrifugiert, zweimal mit 25 ml Waschflüssigkeit nachgewaschen (25 ml 4%ige PhS-Lösung + 25 ml 10%ige Oxalsäure + 300 ml konz. HNO_3/Liter Waschflüssigkeit). Man wiederholt die Fällung, löst dann den Niederschlag in 15—20 ml gesättigter Diammoniumcitratlösung und spült mit 25—30 ml Wasser nach. Man setzt 30—40 ml konz. Salpetersäure, 1 ml Perhydrol (30%ig) und 4—5 ml 4%ige PhS-Lösung hinzu. Nach weiteren 15—20 min wird filtriert (Blauband), 4—5 mal mit 4 n Salpetersäure nachgewaschen, bei 1100° C im Muffelofen verglüht und gewogen. Der Faktor auf Th ist 0,429. A. v. Wilpert

Zur Bestimmung sehr kleiner Mengen Nitrat, Nitrit und Hydroxylamin beschreiben N. S. Drozdov und A. K. Iskandarjan[2] Verfahren, die auf der Messung der mit Sulfanilsäure (SAS) und α-Naphthylamin (NA) entstehenden Färbungen beruhen. — *Ausführung. Zur Bestimmung des Nitrits* werden 10 ml der Prüflösung mit 25 ml Wasser und 1 ml 0,05 m Sulfanilsäurelösung (10,5 g SAS, 6,8 g Na-Acetat und 300 g Eisessig, mit 600 ml Wasser 3 min gekocht und zum Liter aufgefüllt) versetzt; nach 15—20 min setzt man 1 ml 0,035 m α-Naphthylaminlösung (5 g NA werden 5 min mit nahezu 1 Liter Wasser gekocht, die Lösung wird filtriert und nach Zusatz von 5 ml konz. Salzsäure und Abkühlen zum Liter aufgefüllt) hinzu und füllt nach weiteren 20 min auf 100 ml auf. Die Farbe wird photometriert und nach einer Eichkurve ausgewertet. — *Zur Bestimmung des Hydroxylamins* werden 10 ml Prüflösung

[1] Ž. anal. Chim. 11, 658—667 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zusammenfassung.) Akad. Wiss. UdSSR, Vernadsky-Inst., Moskau.

[2] Ž. anal. Chim. 11, 723—727 (1956) [Russisch], H. 6, Suppl., 7—8. (Mit engl. Zusammenfassung.) 2. Medizin. Inst., Moskau.

nach Verdünnen mit 25 ml Wasser mit 0,5 ml SAS-Lösung auf siedendem Wasserbad 5—6 min erhitzt; nach dem Abkühlen werden weitere 1,5 ml SAS-Lösung und 1 ml ~ 0,1 n Jodlösung (1,3 g Jod in 100 ml Eisessig) zugegeben, nach 5 min wird der Jodüberschuß durch Zugabe von 0,1 n Thiosulfatlösung bis zur Entfärbung entfernt, nach weiteren 5 min gibt man 1 ml NA-Lösung zu, füllt 20 min später auf 100 auf und photocolorimetriert. — *Zur Bestimmung des Nitrats* werden 10 ml Prüflösung mit 0,3 ml SAS- und 0,2 ml Jodlösung (s. o.) versetzt; nach 5 min wird 5—6 min erwärmt (Wasserbad), gekühlt und auf 20 ml aufgefüllt. Man kühlt 15—20 min mit Eis und setzt 1 g Zn-Staub (mit 20%iger Essigsäure 1 Std gereinigt) hinzu, filtriert nach $^1/_2$ min, verdünnt 10 ml des Filtrats mit 25 ml Wasser, setzt 2 ml SAS und 1 ml Jodlösung hinzu, entfärbt nach 5 min mit Thiosulfat, setzt nach 5—6 min 1 ml NA-Lösung hinzu, füllt nach 20 min auf 100 ml auf und photocolorimetriert. Die Messungen befolgen das Beersche Gesetz nur bei sehr geringen Konzentrationen: bis zu $1{,}2 \cdot 10^{-6}$ Mol/l Nitrit und $5 \cdot 10^{-7}$ Mol/l Nitrat bzw. Hydroxylamin.

A. v. Wilpert

Phosphor. *Bei der photometrischen Bestimmung des Phosphors als Molybdatovanadatophosphorsäure* ist man im allgemeinen gezwungen, die Extinktion dieser Heteropolysäure auf der langwelligen Flanke ihrer Absorptionsbande bei etwa 400 mμ zu messen, weil das Absorptionsvermögen der vorgeschriebenen relativ konzentrierten Reagenslösungen — d. h. der Blindwert — zu kürzeren Wellen steil ansteigt. Das Absorptionsmaximum liegt nach Messungen, die O. B. Michelsen[1] an salzsauren, verdünnten Lösungen mit einem Beckman DU-Spektralphotometer ausführte, bei 315 mμ. Bei dieser Wellenlänge stellt sich die maximale Extinktion in 0,02—0,07 n salzsauren Lösungen und bei Anwendung der unten angegebenen Reagenskonzentrationen innerhalb 2 min auf einen mindestens 2 Std lang beständigen Endwert ein; sie folgt dem Beerschen Gesetz bei Phosphorkonzentrationen von 0—2,5 μg P/ml. Die Molarextinktion ist etwa 22000. Sie hängt, ebenso wie die Geschwindigkeit der Komplexbildung, stark von der Salzsäurekonzentration ab. Das gleiche gilt für die Extinktion der Blindlösungen. Sie ist am geringsten in 0,04 n Salzsäure. Salpetersäure ist wegen ihrer Eigenabsorption bei etwa 300 mμ zu vermeiden. Sofern keine anderen störenden Substanzen wie etwa Eisen vorhanden sind, können sehr kleine Phosphorgehalte mit hoher Genauigkeit — 1—3% Fehler — bestimmt werden. — *Arbeitsvorschrift.* Zu der 0,1 n salzsauren Probenlösung, die 0,2—3 μg P/ml enthalten soll, gibt man ein gleiches Volumen Reagenslösung und photometriert nach 2 min bei 315 mμ gegen eine Blindlösung. — Die *Reagenslösung* wird folgendermaßen hergestellt. Man löst 2,34 g Ammoniummetavanadat in 500 ml heißem Wasser, gibt 28 ml konz. Salzsäure hinzu und verdünnt nach Abkühlung auf 1 l; ferner löst man 35,3 g Ammoniummolybdat, $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$, in warmem Wasser (50° C) und verdünnt nach Abkühlung auf 1 l. Zu 1 Vol.-Teil der Vanadatlösung gibt man 2 Vol.-Teile 2,5 n Salzsäure und 2 Vol.-Teile der Molybdatlösung und verdünnt die Mischung mit Wasser auf das 25fache Volumen.

H. Specker

Arsen kann nach H. Vial de Sachy[2] in einfacher Weise *neben Antimon nachgewiesen* werden durch Einwirkung des mit Zink und Schwefelsäure entwickelten Gases auf ein mit $CuSO_4$-Lösung getränktes Filtrierpapier. AsH_3 färbt das Papier braun bis schwarz unter Bildung von Kupferarsenid, während SbH_3 nicht reagiert. 1 mg As_2O_3 ergibt nach 2—3 min eine intensive Schwärzung; mit 0,25—0,5 mg beginnt die Färbung nach 3 min. — Im Reagensglas befindet sich über der Flüssigkeit

[1] Analyt. Chemistry **29**, 60—62 (1957). Defence Res. Establishment, Kjeller (Norwegen).

[2] Chim. analytique **38**, 435 (1956); Ann. Falsificat. Fraudes **50**, 53—54 (1957).

ein Papierstopfen oder Wattebausch als Tropfenfänger, darüber das Reagenspapier und darüber ein weiterer Papierstopfen, damit das Gas nicht zu schnell entweichen kann. G. Denk

Vanadium. K. Kodama[1] hat eine *Methode zur gravimetrischen Bestimmung von Vanadinsäure als Wismutvanadat* ausgearbeitet. Die Probe wird mit einer Lösung, die in 100 ml 4—10 ml 6 n Überchlorsäure und Bi^{3+}-Ionen enthält, gekocht. Der dabei entstehende kristalline, orangegelbe Niederschlag wird nach der Filtration mit 2%iger salpetersaurer Ammoniumnitratlösung gewaschen und bei einer Temperatur von 675° C geglüht. Obwohl der Bodenkörper unter verschiedenen Bedingungen etwas schwankende Zusammensetzung haben kann, lassen sich Mengen von 0,5 bis 10 mg V_2O_5 mit dem Faktor 0,245, entsprechend dem Molverhältnis $Bi_2O_3 : V_2O_5 = 6 : 5$, befriedigend genau bestimmen. — Viele Kationen stören, Anionen sind jedoch ohne schädlichen Einfluß. G. Denk

Ju. V. Moračevskij und L. I. Beljajeva[2] haben eine *spektrophotometrische Untersuchung wäßriger Lösungen des fünfwertigen Vanadiums*[1] in dem weiten p_H-Bereich von 6 n NaOH bis 10 n H_2SO_4 durchgeführt, um über die Zusammensetzung der in den Lösungen vorhandenen Polyvanadate Aufschluß zu erhalten. Die Versuche zeigen, daß sich in der Nähe des isoelektrischen Punktes ($p_H \sim 2$) das Vanadiumvanadat $VO_2 \cdot VO_3 \cdot$ aq. bildet. Die vielen Polyvanadiumsäuren entstehen nur durch Assoziation der Moleküle dieses Salzes, wobei diese Assoziation bereits bei der Konzentration 10^{-4} g-Atom/Liter beginnt. Für diese Assoziationen werden mögliche Schemata vorgeschlagen. A. v. Wilpert

Zur Abtrennung und nachfolgenden Titration von Sulfat lassen J. S. Fritz, S. S. Yamamura und M. J. Richard[3] die Lösung über Aluminiumoxyd fließen, wobei noch 0,5 ppm Sulfat neben großen Mengen Chlorid, Nitrat, Perchlorat und Metallionen selektiv adsorbiert werden. Nach Eluierung mit Ammoniak wird die Lösung durch einen Kationenaustauscher (H-Form) gegeben und mit 0,01 m Bariumperchloratlösung gegen Thorin titriert. Phosphat und Fluorid, welche durch Al_2O_3 ebenfalls adsorbiert werden, können durch Fällung mit $MgCO_3$ vom Sulfat getrennt werden. Cr^{III}, Zr und Th, die Sulfatoverbindungen bilden, werden mit Äthylendiamintetraessigsäure oder besser mit N-Oxyäthyläthylendiamintetraessigsäure in beständige Komplexe überführt. — *Ausführung.* Das Aluminiumoxyd wäscht man zunächst mehrmals mit Wasser, bringt es dann in das Rohr (Länge der Al_2O_3-Schicht 6 cm), wäscht mit 50 ml 1 m Ammoniak, mehrmals mit je 5 ml 0,1 m Ammoniak, dann mit 50 ml Wasser und schließlich mit 10 ml Salzsäure oder Überchlorsäure gleicher Konzentration wie bei der Analyse. Die Säule wird auf eine Saugflasche aufgesetzt; sie soll nie trocken werden. — In der Probelösung mit 0,12 bis 12 mg Sulfat stellt man mit verd. Überchlorsäure oder Salzsäure p_H 0,5—1,0 ein, gibt die Lösung durch die Al_2O_3-Säule (120 Tr./min) und wäscht mit 10 ml Salzsäure (1 : 20) und 25 ml Wasser. Dann eluiert man mit 5 ml 1 m Ammoniak, 20 ml 0,1 m Ammoniak, 4mal 5 ml 0,1 m Ammoniak und 25 ml Wasser. Das Eluat läßt man durch einen Kationenaustauscher (Dowex 50-X8, H-Form) in einen 100 ml, Meßkolben fließen, wäscht mit Wasser, füllt zur Marke auf, versetzt 10 ml davon mit 40 ml Alkohol und titriert mit 0,01 m Bariumperchloratlösung [3,9 g $Ba(ClO_4)_2 \cdot 3H_2O$ in 200 ml H_2O + 800 ml Alkohol] gegen Thorin [0,2%ige wäßrige

[1] Jap. Analyst 5, 628—630 (1956) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. refer.) Municipal Ind. Research Inst., Nagoya (Japan).

[2] Ž. anal. Chim. 11, 672—677 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Ždanow-Univ., Leningrad.

[3] Analyt. Chemistry 29, 158—161 (1957). State College, Ames, Iowa (USA).

Lösung von 2-(2-Hydroxy-3,6-disulfo-1-naphthylazo)-benzolarsonsäure]. — Zur *Oxydation organischer Schwefelverbindungen* mischt man 0,2—0,3 g der Probe mit 0,5 g Zucker, 0,5 g $KClO_4$ und 12 g Na_2O_2 und überschichtet mit 3 g Na_2O_2. Nach der Verbrennung in der Bombe löst man die Schmelze in Wasser, säuert mit konz. Salzsäure an, verdünnt im Meßkolben auf 500 ml und gibt 50—100 ml dieser Lösung durch die Al_2O_3-Säule. G. Denk

Uran. P. Blanquet[1] berichtet über die *photometrische Uranbestimmung mit Dibenzoylmethan*. Diese bekannte Uranbestimmung nach J. H. Yoe, F. Will III und R. A. Black[2] wird vom Verf. erheblich verbessert und vereinfacht. Die Methode ist anwendbar für weniger als 0,5% bis über 10% Uran in *Mineralien*; die üblichen Begleitmetalle des Urans stören bei Gehalten über 5% Uran nicht. — *Arbeitsvorschrift*. Bei Gehalten unter 0,5% U_3O_8. 250 mg der feinzerteilten Probe werden im 50 ml Becherglas mit 1 ml konz. Schwefelsäure versetzt und zur Trockne eingedampft; diese Operation wird noch einmal mit 0,5 ml Schwefelsäure wiederholt. Dann gibt man 2 g Kaliumhydrogensulfat hinzu und erhitzt, bis alles Hydrogensulfat in Pyrosulfat übergeführt ist. Nach dem Abkühlen setzt man 5 ml 5%ige wäßrige Alkohollösung und 5 ml Eisen(III)-lösung hinzu. [300 ml $FeCl_3$ (45° Bé), 15 ml H_3PO_4 (85%ig), 500 ml $HClO_4$ (D 1,67), mit dest. Wasser auf 2000 ml auffüllen.] Dann wird auf dem Sandbad bis zur Zersetzung des Pyrosulfates erhitzt. Man fügt 25 ml Sodalösung (150 g Na_2CO_3/l) hinzu, erwärmt 15 min und führt Lösung und Niederschlag in einen 50 ml Meßkolben über. Davon werden 5 bis 10 ml abfiltriert und genau 5 ml in einen 25 ml-Meßkolben pipettiert. Nach Zugabe von 1 ml Weinsäurelösung (500 g/l) füllt man mit der Reagenslösung zur Marke auf (2 g Dibenzoylmethan, 12,5 g Äthylendiamintetraessigsäure, 500 ml Pyridin, mit Wasser auf ein Liter auffüllen). Nach 30 min wird die Extinktion bei 415 mμ gegen eine gleichartige Blindprobe gemessen. Auf konstante Temperatur ist besonders zu achten. Bei größeren Gehalten Uran werden die Lösungen entsprechend verdünnt. Weiterhin enthält die Arbeit eine ausführliche Beschreibung und eine Tabelle der untersuchten Kationen, die die Uranbestimmung stören könnten, und eine Diskussion über die stöchiometrische Zusammensetzung der gefärbten Dibenzoylmethan-Uranverbindung. Die Methode lieferte bei der Analyse von *Pechblende, Autunit, Thorianit, Columbit, Tantalit* und *Carnotit* bei Gehalten von 0,05 bis 25% U_3O_8 sehr gute Ergebnisse. H. Specker

Halogenide. O. Menis, H. P. House und T. C. Rains[3] berichten über eine *indirekte flammenphotometrische Methode zur quantitativen Bestimmung der Halogenide* für Konzentrationen zwischen 0,02—0,2 mMol/l, die sich mit normalen potentiometrischen Verfahren nicht mehr zufriedenstellend erfassen lassen. Die Verff. geben die halogenhaltige Probe zu einer Standard-Silbernitratlösung und messen nach der Fällung der Silberhalogenide die Intensität der Silberlinie 328 mμ. Bis zu 1 mg Silber/ml in 0,1 n salpetersaurer Lösung betragen die Silbergehalte der Standardlösungen. Die Konzentrationen werden jeweils so gewählt, daß Silber in bezug auf die nachzuweisenden Halogene immer in genügendem Überschuß vorhanden ist. Zur Analyse wird die Mischung der Probenlösung mit der Standardlösung so weit verdünnt, daß die Gesamtmenge an Silber 40 μg/ml beträgt, da die Intensität der Silberlinie nur im Bereich von 5—50 μg/ml linear mit der Konzentration ansteigt. Zur quantitativen Fällung der Silberhalogenide wird das Lösungs-

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **16**, 44—56 (1957). Minerais et Métaux, S. A., Paris (Frankreich).

[2] Analyt. Chemistry **25**, 1200 (1953); vgl. diese Z. **142**, 392 (1954).

[3] Analyt. Chemistry **29**, 76—79 (1957). National Lab., Oak Ridge, Tenn. (USA).

gemisch 5 min mit 6000 Umdrehungen/min zentrifugiert. Um auch *Brom in Gegenwart von Chlor* oder *Jod in Gegenwart von Brom und Chlor* bestimmen zu können, wird im ersten Fall 0,03 m und im zweiten Fall 0,5 m Ammoniaklösung zugegeben. Die Verff. benutzen ein Beckman-DU-Flammenphotometer mit Multiplier und Knallgasbrenner (Wasserstoffdruck: 0,42 atü; Sauerstoffdruck: 0,70 atü). Die Linie wird mit einer Spaltbreite von 30 μ gemessen. Der Untergrund wird bei 329 mμ gemessen und seine Intensität mit Hilfe der Dunkelstromkompensation unterdrückt. Zur genaueren Einstellung der Wellenlänge ist ein Mikrometertrieb angebracht. Es wird berichtet, daß Uranylionen in 1000- bis 60000fachem, Dichromationen in 2- bis 20fachem und Phosphationen in 20- bis 50fachem Überschuß nicht stören. Als Bestimmungsbeispiel wird die *Bestimmung von Chlor in Glas* angeführt. — Die *Nachweisgrenze* liegt für *Chlorid* bei 0.5 μg/ml, für *Bromid* bei 1 μg/ml und für *Jodid* bei 1,5 μg/ml. Die untere Grenze für die quant. Bestimmung liegt bei 1,5 μg Cl, 3 μg Br, bzw. 4,5 μg J. Die Genauigkeit der Methode wird mit $\sim 5\%$ relativ angegeben. F. Rosendahl

G. D. Nessonova und D. V. Turkovskaja[1] haben einige *argentometrische, mercuro- und mercurimetrische Titrationsmethoden von Chlorion* an Lösungen von $CaCl_2$, KCl, NH_4Cl, $MgCl_2$, $BaCl_2$ u. a. überprüft. Unter Verwendung von 0,05 n Maßlösungen (fallweise auch 0,01 n Lösungen) geben alle untersuchten Verfahren übereinstimmende Werte mit Maximalabweichungen von —0,9 bis +0,5% vom Sollwert. Der Hauptnachteil der Quecksilbermethoden ist die Giftigkeit der Quecksilbersalze. Ein ökonomischer Vorteil der Quecksilber- gegenüber den Silbermethoden besteht nicht. W. Böhm

B. I. Leonov[2] empfiehlt folgende *Arbeitsweise zur jodometrischen Bestimmung von Jodidion*: Zu 5—25 ml der Prüflösung (50—300 mg J-Ion) gibt man 5 ml 1 n $K_2Cr_2O_7$-Lösung, 10 ml 4 n Salpetersäure oder 4 n Salzsäure und kühlt mit Leitungswasser. Dann fügt man unter Umrühren 6 g trocknes $BaCO_3$ zu, nach Aufhören des Aufbrausens versetzt man mit 5 ml 1 n KJ-Lösung und titriert mit Thiosulfatlösung und (gegen Ende der Titration) Stärke bis zum Verschwinden der Färbung. Zum Vergleich durchgeführte 10 Analysen nach dem Nitritverfahren von Kolthoff und nach dem KJO_3-Chloroformverfahren von Korenman zeigen, daß die vorgeschlagene Methode genauer ist. — Die Lösungen dürfen nicht zu verdünnt sein, sonst können die Ergebnisse zu niedrig ausfallen. Chloride stören nur unwesentlich; ein 100facher Überschuß bringt nur ein um 2% zu hohes Resultat. Hingegen gibt die der Jodidmenge gleiche Menge Bromid bereits dieselben um 2% zu hohen Titrationsergebnisse. Das Verfahren ist besonders geeignet bei einem Gehalt von etwa 10 mg J/ml. A. v. Wilpert

Mangan. *Frisch gefälltes Mangan(IV)-oxydhydrat* geht in 1—2,5 n Natronlauge in Gegenwart eines vierfachen molaren Überschusses von *Tellurat* mit orangeroter Farbe wieder in Lösung. Diese Reaktion benutzen A. R. Tourky, I. M. Issa und I. F. Hewaidy[3] zur *photometrischen Manganbestimmung* bei 400—420 mμ[4]. Bei zu geringen Tellurkonzentrationen bleibt das Mangan(IV)-oxydhydrat teilweise ungelöst; bei zu hohen Gehalten fällt ein kristalliner Niederschlag, der die rote Verbindung okkludiert. Für diese rote Verbindung haben die Verff.

[1] Zavodskaja Laborat. **23**, 159—161 (1957) [Russisch]. Textil-Inst. Moskau.

[2] Ž. anal. Chim. **11**, 749—751 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zusammenfassung.) Medizin. Inst. Kischinew.

[3] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **16**, 151—154 (1957). Cairo Univ., Giza (Ägypt.).

[4] Weitere Anwendungen dieser Reaktion haben I. M. Issa und Mitarb. bereits früher beschrieben; vgl. u. a. diese Z. **153**, 210, 214 (1956); **155**, 368 (1957); **156**, 300 (1957).

volumetrisch das Molverhältnis Mn : Te = 1 : 4 ermittelt. Das Beersche Gesetz ist innerhalb des Konzentrationsbereiches 10—50 μg Mn/ml erfüllt. Angaben über die Stabilität der Farbe über die Lage des Absorptionsmaximums und über Störungen fehlen. — *Arbeitsvorschrift.* Die Mangan(II) enthaltende Lösung wird mit einem vierfachen Überschuß an Tellursäure versetzt, 2,5 n natronalkalisch gemacht und mit 20%igem Wasserstoffperoxyd zur Oxydation des Mangans versetzt, wobei ein nur geringer Überschuß anzuwenden ist, der anschließend bei 60° C vertrieben wird. Nach Abkühlung wird bei 400—420 mμ photometriert. H. Specker

Die polarographische Reduktion des Permanganat-Ions an Platin- und Quecksilberelektroden wurde von O. A. Songina und Z. B. Roždestvenskaja[1] bei wechselnden Schwefelsäurekonzentrationen untersucht. Die Konzentration der Permanganatlösungen lag bei 10^{-3} bis 10^{-5} n, die Platinelektrode war ein rotierender (366 U/min) Pt-Draht (4 mm lang, 0,5 mm dick). Als Hg-Elektrode diente die Quecksilbertropfelektrode. Der Sauerstoff wurde durch einen H_2-Strom entfernt (bei Anwendung der Pt-Elektrode ist ein Hindurchleiten von H_2 nicht notwendig). In beiden Fällen wird ein Diffusionsstrom erhalten, dessen Wellenhöhe der Konzentration des Permanganats proportional ist. Das Verfahren ist zur $KMnO_4$-Bestimmung anwendbar. Bei der Pt-Elektrode liegt dieser Strom im Gebiet + 0,2 bis + 0,6 V, das Halbwellenpotential bei + 0,7 bis + 0,9 V. Als Vergleichselektrode dient die gesätt. Kalomelelektrode. Chloridbrücken dürfen bei der Pt-Elektrode nicht verwendet werden, sondern nur KNO_3-Brücken. — Bei der Elektrolyse mit der Hg-Tropfelektrode in schwefelsaurer Lösung wird eine Welle im Bereich — 0,3 bis + 1,2 V beobachtet (gemessen gegen die gesätt. Kalomelelektrode). Die Pt-Elektrode darf nicht vorpolarisiert sein, sonst sinkt die Stufenhöhe (bei negativen Potentialwerten durch direkte Reaktion des Permanganats mit dem am Pt absorbierten Wasserstoff). Die Stufenhöhe sinkt auch bei hoher Konzentration der H_2SO_4 (0,1—12 n), was auf den Einfluß der Viscositätsänderung zurückzuführen ist. In 6—10 n H_2SO_4 wird das Permanganat rasch entfärbt (Reaktion zwischen Hg und Permanganat), die Welle jedoch behält ihre Form (dieselbe Erscheinung einer ähnlichen Welle wird beim Polarographieren von Dichromat beobachtet).
A. v. Wilpert

Kobalt. G. D. Nessonova und E. K. Pogosjanc[2] beschreiben eine *neue Farbreaktion auf zweiwertiges Kobalt.* Man vermischt 1 ml 0,5 n Prüflösung mit 2 ml Glycerin (D 1,46) und setzt 1 ml 10 n NaOH-Lösung hinzu. In Anwesenheit von Co färbt sich die Lösung sofort intensiv blauviolett, bei geringen Co-Konzentrationen himmelblau. Die Erfassungsgrenze liegt bei 0,16 mg Co/ml Lösung. Zur Durchführung als Tüpfelreaktion vermischt man 1 Tropfen Lösung auf der Porzellantüpfelplatte mit 2 Tropfen Glycerin und gibt dann 1 Tropfen 10 n Natronlauge zu. Es entsteht ein grellblauer Fleck. Der Laugezusatz muß stets zum Schluß erfolgen, andernfalls unterbleibt die Farbreaktion und es scheidet sich Kobalthydroxyd ab. Bei längerem Stehen an der Luft färben sich die blauen Lösungen grün ($Co^{2+} \rightarrow Co^{3+}$)
A. v. Wilpert

Platinmetalle. N. K. Pšenicyn und O. M. Ivonina[3] empfehlen die *gravimetrische Bestimmung von Palladium mit 1,2-Cyclohexandiondioxim (Nioxim).* Die Verff. bestätigen die Befunde von R. C. Voter, Ch. V. Banks und H. Diehl[4] über die

[1] Ž. anal. Chim. **11**, 717—722 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zusammenfassung.) Kasach.-Univ., Alma-Ata.

[2] Ž. anal. Chim. **11**, 754 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zusammenfassung.) Textil-Inst., Moskau.

[3] Ž. neorg. Chim. **2**, 121—127 (1957) [Russisch].

[4] Analyt. Chemistry **20**, 652 (1948); vgl. diese Z. **132**, 66 (1951).

größere Empfindlichkeit und andere Vorteile der Nioximmethode gegenüber der Dimethylglyoximmethode. — Die Bestimmung wird im Wesentlichen nach der Vorschrift von VOTER u. Mitarb. durchgeführt. Die Prüflösung, enthaltend 10 bis 25 mg Pd als $PdCl_2$, wird mit Wasser und Salzsäure auf 200 ml verdünnt (Endgehalt etwa 3% HCl entsprechend p_H 0,5; die Fällung kann im p_H-Bereich 0,5 bis 8,0—8,5 erfolgen). Man erhitzt auf dem Wasserbad und setzt einen 30%igen Überschuß an 0,8%iger wäßriger Nioximlösung hinzu (ein großer Überschuß stört nicht). Man filtriert heiß durch einen Glasfiltertiegel Nr. 4, wäscht mit heißem Wasser nach, trocknet bei 110—120° C und wägt; der Umrechnungsfaktor auf Pd beträgt 0,2743. Die Fällung ist vollständig (im eingedampften Filtrat werden nur 2—7 μg Pd nachgewiesen). — Eine dem Palladium gleiche Menge Pt sowie $^1/_5$—$^1/_{20}$ der Pd-Menge an Rh und Ir in der Prüflösung stören nicht (es werden höchstens 10 μg Pt mitgefällt). Auch Ni, Cu, Pb und Fe^{3+} stören bei p_H 0,5 nicht. Zehnfache und größere Mengen Fe^{3+} stören; sie sind durch 5%ige Äthylendiamintetraacetatlösung unschädlich zu machen. Der hohe Säuregehalt (3% HCl) begünstigt die scharfe Trennung des Palladiums von den Beimengungen.

Die polarographische Palladiumbestimmung gelingt nach M. B. BARDIN und JU. S. LJALIKOV[1] unter Verwendung einer festen Platinelektrode. Apparatur und Elektrolysengefäß sind bereits früher beschrieben[2]. Die Prüf- oder Vergleichslösung wird mit 0,1 n $NaNO_3$-Lösung zur Marke 25 ml aufgefüllt, zur Bestimmung werden 20 ml entnommen. Der Sauerstoff wird durch einen Stickstoffstrom ferngehalten. Die Elektrode ist ein Pt-Draht, der in Glas eingeschmolzen ist. Die Elektrode gibt in 0,1 n $NaNO_3$-Lösung eine klare polarographische Reduktionswelle beim Anlegen einer EMK von 0,6—0,7 V. Die Fehler einer Einzelbestimmung gehen nicht über 6, die mittleren Fehler nicht über 3% hinaus. Beim Rotieren der Elektrode (800 Umdrehungen/min) wird die Bestimmungszeit um das 3—4fache verkürzt. — Die Reaktion ist irreversibel (die Tangente des Neigungswinkels übersteigt bedeutend den theoretischen Wert); es bildet sich eine Pd-Schicht auf der Pt-Elektrode. Diese Schicht absorbiert Wasserstoff, was durch Hindurchleiten von N_2 nicht verhindert werden kann. Daher wird die Elektrode mit der Zeit unbrauchbar, sie kann jedoch durch Eintauchen in heiße konz. HNO_3 wieder rasch regeneriert werden (wonach die 2—3 ersten neuen Polarogramme noch nicht ganz klar sind). Ein auftretendes Maximum der Welle wird durch Zusatz von 0,2—0,4 ml 0,1 n Salzsäure zu 10 ml der Lösung verhindert. Die Welle wird am besten reproduzierbar erhalten, wenn man das Polarographieren bei 1,2—1,3 V beendet (solange Wasserstoff noch nicht ausgeschieden wird). Eine Depolarisation der palladierten Pt-Elektrode erfolgt nicht. A. v. WILPERT

Die direkte mikroheterometrische Bestimmung von Palladium mit Dimethylglyoxim bei Gegenwart überschüssiger Fremdmetalle wird von M. BOBTELSKY und B. MAYER[3] beschrieben. Im Vergleich mit der früher mitgeteilten Bestimmung von Pd mit α-Nitroso-β-naphthol[4] beträgt die Empfindlichkeit nur $^1/_3$. Der Fehler ist der gleiche, 0—3%. Während 50% Alkohol, Aceton oder Dioxan bei Verwendung von α-Nitroso-β-naphthol die Reaktion empfindlicher gestalten, ist bei Verwendung von Dimethylglyoxim das Gegenteil der Fall, und der Endpunkt wird dadurch unsicher. Große Mengen Chlorid verhindern die Fällung mit α-Nitroso-β-naphthol

[1] Ž. anal. Chim. **11**, 704—709 (1956) [Russisch]. (Mit engl. Zusammenfassung.) Univ. Kischenew.

[2] BARDIN, M. B., u. JU. S. LJALIKOV: Ž. anal. Chim. **10**, 305 (1955); vgl. diese Z. **152**, 371 (1956).

[3] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **15**, 373—378 (1956). Hebrew Univ., Jerusalem.

[4] BOBTELSKY, M., und B. MAYER: vgl. diese Z. **155**, 383 (1957).

und Cu stört den Endpunkt, während bei der Titration mit Dimethylglyoxim große Mengen Chlorid und $\geqq 99\%$ Cu nicht stören. Durch p_H-heterometrische Untersuchungen wurde festgestellt, daß eine quantitative Fällung von $Pd(DG)_2$ bei $p_H \leqq 5$ erfolgt und eine völlige Auflösung des Komplexes bei $p_H \geqq 11$. Dazwischen findet teilweise Fällung statt. $> 99\%$, teilweise bis 99,9% folgender Metalle stören die Bestimmung nicht: Ca^{2+}, Ba^{2+}, Mg^{2+}, Zn^{2+}, Mn^{2+}, Ni^{2+}, Co^{2+}, Al^{3+}, Fe^{3+}, Cr^{3+}, Pb^{2+}, Cd^{2+}, Cu^{2+} und Hg^{2+}. Fe muß allerdings maskiert werden. Die Verwendung eines roten Filters wird empfohlen. Bei Verwendung eines dunkelblauen Filters steigen die gemessenen Dichtewerte zwar auf das Doppelte, die Erkennung des Endpunktes wird aber unsicher und der Fehler steigt dadurch bis auf 10%. — *Arbeitsweise.* 20 ml einer wäßrigen, mit starker Mineralsäure angesäuerten Lösung von 1—1,8 mg Pd werden mit etwa 0,01 m alkoholischer Dimethylglyoximlösung unter Verwendung eines roten Filters heterometrisch[1] titriert; Dauer der Bestimmung etwa 20 min. HILDEGARD PLUSKAL

Eine sehr empfindliche und genaue spektralphotometrische Methode der Iridiumbestimmung teilen G. H. AYRES und W. T. BOLLETER[2] mit. Die Methode beruht auf der Oxydation der farblosen Leukobase des Kristallvioletts (4,4′, 4″,-Hexamethyltriaminotriphenylmethan) durch Iridium(IV) zur Carbinolbase, die durch Säureeinwirkung weiter in das gefärbte und spektralphotometrisch faßbare Imoniumsalz übergeht. Die Bestimmung erfolgt in acetatgepufferter Lösung im p_H-Bereich 3,5—4,7; gemessen wird bei 590 mμ in 1 cm-Küvetten. Der optimale Konzentrationsbereich beträgt 0,5—4 ppm Iridium, die molare Extinktion ($\varepsilon_{590\,m\mu}$) $4{,}8 \cdot 10^4$. Störungen durch andere Platinelemente treten erst bei 5—50fachem Überschuß auf. Nur Gold(III) stört erheblich. Diese Störung kann aber durch vorgeschaltete Reduktion des Goldes mit Hydrochinon und anschließende Amalgamierung und Abtrennung behoben werden. — *Arbeitsweise.* Zu der Iridiumlösung werden 10 ml 70—72%ige Perchlorsäure, 10 ml konz. Salpetersäure und so viel 85%ige Phosphorsäure zugefügt, daß das bekannte Endvolumen 1 m phosphorsauer ist. Die Lösung wird erhitzt, bis die Perchlorsäure völlig verflüchtigt ist. Nach Abkühlen wird erheblich verdünnt, weitere 30 min gelinde gekocht und auf das Endvolumen verdünnt. Ein aliquoter Teil dieser 1 m phosphorsauren Iridiumlösung wird mit 1 ml 0,10%iger Leuko-Kristallviolettlösung in 1 m Phosphorsäure und mit 10 ml Acetatpuffer (700 ml Eisessig + 300 ml 6 n Natronlauge, p_H 3,9) in einen 25 ml-Kolben gegeben. Der Kolben wird mit Wasser zur Marke aufgefüllt. Die Farbe entwickelt sich sofort und bleibt mehr als 12 Std stabil. Gemessen wird bei 590 mμ gegen eine gleichbehandelte Blindlösung in 1 cm-Küvetten. Im Konzentrationsbereich von 0,5—4 ppm Iridium beträgt der relative Fehler etwa 0,6%.
H. SPECKER

IV. Spezielle analytische Methoden

3. Analysenmethoden auf dem Gebiete der Pharmazie

Über die Anwendung der Koflerschen Mikromethoden in der Arzneimittelanalyse berichten A. SEKERA und J. POKORNÝ[3]. 19 in der Praxis benutzte binäre Arzneimittelgemische wurden auf Grund der Brechungsexponenten ihrer Schmelze[4,5] quantitativ analysiert. Es wurde nach der üblichen, von KOFLER[4]

[1] Vgl. u. a. diese Z. **144**, 123—126 (1955); **148**, 281 (1955/56); **150**, 356 (1956).
[2] Analyt. Chemistry **29**, 72—75 (1957). University of Texas, Austin, Tex. (USA).
[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1957**, 103—112. Univ. Brünn (ČSR).
[4] KOFLER, L., u. A. KOFLER, Thermo-Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische: Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße 1954.
[5] SEKERA, A., und J. POKORNÝ, Českoslov. Farmac. **5**, 479 (1956).

beschriebenen mikrorefraktometrischen Methode gearbeitet. Bei 9 Gemischen war es möglich, die Bestimmung im ganzen Konzentrationsbereich durchzuführen, 5 Gemische konnten nur teilweise analysiert werden (es blieben aber gerade jene Konzentrationen analytisch erreichbar, die in der Rezeptur benützt werden). Bei zu kleinem Unterschied der Brechungsexponenten, Nichtmischbarkeit der Schmelzen oder Flüchtigkeit der Komponenten erwies sich die Methode als unbrauchbar. Die Bestimmungsempfindlichkeit, die durch die Differenz der Brechungsexponenten einzelner zu bestimmender Komponenten gegeben war, lag bei den untersuchten Gemischen im Bereich von 0,25—3%. Die Reproduzierbarkeit der gefundenen Werte war in den meisten Fällen sehr gut. Die experimentellen Werte mag man ausführlich angelegten Tabellen der Originalarbeit entnehmen. K. Machner

Spektralphotometrische Bestimmung von Menadion. V. Sathe, J. B. Dave und C. V. Ramakrishnan[1] beschreiben ein modifiziertes Verfahren zur *spektralphotometrischen Bestimmung kleiner Mengen (2—300 μg) von 2-Methyl-1,4-Naphthochinon (Menadion)*, das aus Schimmelpilzkulturen zu isolieren ist und wegen seiner dem Vitamin K ähnlichen Wirkung von Interesse ist. Das Methylnaphthochinon wird zunächst in wäßrig-äthanolischer Salzsäure und in der Wärme mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin umgesetzt, danach mit Sodalösung geschüttelt. Die Extinktion des entstandenen grünen, mit Amylalkohol extrahierbaren Farbstoffes wird bei 635 mμ gemessen. Sie folgt dem Beerschen Gesetz zwischen Gehalten von 2 bis 300 μg 2-Methyl-1,4-Naphthochinon. Die Größe der Extinktion und ihre Beständigkeit, ferner die Geschwindigkeit der Umsetzung hängen stark vom Grade und der Dauer der Erhitzung der Lösungen ab, weniger stark, aber doch merklich, von der Reagenskonzentration. Größere Wasser- und Äthanolgehalte stören. — *Arbeitsvorschrift.* 0,1 ml der äthanolischen Lösung (Extrakt) von 2-Methyl-1,4-Naphthochinon werden mit 0,5 ml Äthanol vermischt und dann mit 0,1 ml einer gesättigten Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 2 n Salzsäure versetzt. Die Lösung wird genau 10 min lang auf 35° C erwärmt und nach Abkühlung auf Zimmertemperatur mit 0,3 ml einer 20%-Natriumcarbonatlösung bis zum Auftreten einer grünen Färbung geschüttelt. Danach gibt man 3 ml Amylalkohol, 1 ml Äthanol und 1 ml dest. Wasser zu, schüttelt und läßt 5 min stehen, damit die Phasen sich trennen und die ausgeschiedenen Salze sich absetzen können. Anschließend trennt man die amylalkoholische Phase ab und photometriert sie bei 635 mμ gegen eine Blindprobe. Die Eichkurve wird in gleicher Weise aufgestellt. — Verff. benutzten für die photometrischen Messungen ein Beckman-DU-Spektralphotometer und 1 cm-Küvetten. H. Specker

Alkaloide. L. Rosenthaler und F. Lüdy-Tenger[2] untersuchen die *Reaktion von 37 Alkaloiden und einigen synthetischen Basen mit den Kaliumfällungsmitteln* 1. *Natrium-Uranylchromat*, 2. *Natrium-Calciumcyanoferrat(II)*, 3. *Dipikrylamino-Natrium*, 4. *Perchlorsäure*, 5. *Silber-Natriumnitritokobaltat*, 6. *2,4-Dinitronaphthol-7-sulfonsäure (Flaviansäure)*, 7. *Natriumtetraphenyloborat (Kalignost)*, 8. *2,4-Dinitro-1,6-dinitrosobenzol (Furoxan) und* 9. *2-Naphthylamin-6,8-disulfonsäure.* Viele Fällungen sind amorph, einige jedoch so gut kristallisiert, daß sie zum mikrochemischen Nachweis dieser Alkaloide mit herangezogen werden können (s. Tab. 1, S. 140). Auch die kristallinen Fällungen sind häufig zunächst amorph. Für die quantitative Bestimmung der Alkaloidbasen eignet sich nur *Kalignost.* Mit den Natriumreagentien *Dioxyweinsäure und Uranylacetat* fällt nur *Berberinum sulfuricum* als kristallisiertes Uranylacetat aus.

---

[1] Analyt. Chemistry **29**, 155—156 (1957). M. S. Univ. Baroda (Indien).

[2] Pharmac. acta Helvetiae **32**, 35—46 (1957). Eidg. Alkoholverwaltung, Bern.

Tabelle 1

Alkaloid	Fällungsmittel (Nr.)	Kristallform	Grenzkonzentration
Arecolinum hydrobromicum	7	Nadeln	1 : 10000
Berberinum sulfuricum	1	Nadelbüschel	1 : 100000
Berberinum sulfuricum	4	gelbe Nadeln	1 : 8000
Berberinum sulfuricum	5	Nadelbüschel	1 : 20000
Berberinum sulfuricum	6	Sphärokristalle	1 : 1000
Berberinum sulfuricum	8	gelbe Nadeln	1 : 10000
Berberinum sulfuricum	9	gelbe Nadeln	1 : 100
Brucinum purum	1	Prismenbüschel	1 : 1000
Brucinum purum	4	Nadelbüschel	1 : 300
Brucinum purum	9	Drusen	1 : 100
Colchicinum purum	7	grünl. Nadelbüschel	1 : 500
Hydrastinium hydrochloricum	6	gelbe Drusen und Nadelbüschel	1 : 100
Morphinum hydrochloricum	2	Nadelbüschel, nur feste Subst.	
Nicotinum purum	6	Nadelbüschel	1 : 100
Nicotinum purum	7	Tafeln, Spieße, Büschel	1 : 1000
Papaverinum hydrochloricum	4	Nadelbüschel	1 : 2000
Papaverinum hydrochloricum	5	Drusen	1 : 500
Sparteinum hydrochloricum	2	Nadelbüschel	1 : 1000
Strychninum nitricum	1	Büschel	1 : 1000
Strychninum nitricum	2	Nadelbüschel	1 : 500
Strychninum nitricum	4	Fiedrige Nadelbüschel	1 : 1000
Strychninum nitricum	5	Nadeln	1 : 200
Strychninum nitricum	6	Nadelbüschel	1 : 4000
Strychninum nitricum	8	Nadelbüschel	1 : 1000
Theobrominum purum	7	Nadeln	
Theobrominum purum	8	Nadeln	
Tropacocainum hydrochloricum	1	Fiedrige Blättchen	1 : 200
Tropacocainum hydrochloricum	4	Blättchen, Nadeln	1 : 200
Tropacocainum hydrochloricum	6	Nadelbüschel	1 : 500
Tropacocainum hydrochloricum	8	orange Blättchen	1 : 100
Veratrinum purum	6	Drusen	1 : 1000
Antistinum hydrochloricum	4	Nadeln b. Erhitz.	1 : 333
Antistinum hydrochloricum	5	Blättchen + Nadeln	1 : 500
Antistinum hydrochloricum	6	Nadeln	1 : 1000
Antistinum hydrochloricum	9	Nadeln	1 : 2000
Bradosol-Substanz	9	Nadelbüschel	1 : 2000
Dromoranum tartaricum	6	Drusen	1 : 1000
Dromoranum tartaricum	8	Drusen	1 : 100
Gantrisin-Substanz	8	Sphärokristalle	1 : 100
Prostigminum hydrobromicum	4	Blättchen, nur feste Subst.	
Prostigminum methylsulfonicum	7	Nadeln	1 : 1000
Regitin-Substanz	5	Prismen	1 : 1000

G. Denk

Für die papierchromatographische Trennung von Alkaloiden eignen sich als mobile Phase nach H. Thies und F. W. Reuther[1] besonders gut wassergesättigte Gemische von Butylacetat-Butanol-Eisessig in verschiedener Zusammensetzung. Eine Tabelle gibt die R_f-Werte der wichtigsten Alkaloide für einige Kombinationen der genannten Lösungsmittel an. Auch Gemische aus Butylacetat-Butanol-Phenol-Wasser oder Methyläthylketon-Wasser sind gut verwendbar (Diagramme mit R_f-Werten im Original). K. Söllner

Die elektrophoretischen Wanderweiten von 68 verschiedenen Alkaloiden bei den p_H-Werten 2,3, 4,3, 6,4, 8,2, 10,5 und 11,4 haben G. B. Marini-Bettòlo und J. Coch Frugoni[2] in der Anordnung nach Durrum an Whatman Nr. 1-Papierstreifen in Britton-Robinson-Pufferlösungen gemessen und tabelliert. Die Pufferlösungen werden in einer Ionenstärke von 0,02—0,04 (bei p_H 2,3; 4,3 und 8,2), 0,015 (p_H 6,4) und 0,03 (bei p_H 10,5 und 11,4) verwendet. 10—30 μg Substanz werden in 1%iger Lösung aufgegeben, nachdem der Streifen 1 Std mit 80 V/cm elektrolytisch äquilibriert ist. Dann wird 3 Std elektrolysiert. Identifiziert wird im ultravioletten Licht oder durch Besprühen: Pherogramme bei p_H 6—11,4 mit Kaliumwismutjodidlösung, entsprechend bei p_H 2—6 mit Kaliumplatinjodidlösung. Besondere Auffälligkeiten werden kurz erörtert. K. Cruse

Über die Bestimmung und Trennung von Alkaloiden in einigen pflanzlichen Arzneimitteln und ihren Präparaten mit Hilfe von Ionenaustauschern auf Harzbasis berichtet W. Kamp[3]. Die Untersuchungen erstrecken sich auf die nachstehend genannten Rohdrogen und (in Klammern) deren galenischen Zubereitungen: *Herba Belladonnae* (Extractum Belladonnae Herbae spissum, Tinctura Belladonnae), *Herba Hyoscyami* (Extractum Hyoscyami Herbae spissum), *Cortex Chinae* (Extractum Chinae aquosum liquidum, Extractum Chinae siccum, Tinctura Chinae, Vinum Chinae, *Rhizoma Hydrastis* (Extractum Hydrastis liquidum), *Radix Ipecacuanhae* (Tinctura Ipecacuanhae), *Herba Lobeliae* (Tinctura Lobeliae), *Opium* (Hydrochlorates Alcaloideorum Principalium Opii, Extractum Opii aquosum siccum, Tinctura Opii, Tinctura Opii benzoica, Tinctura Opii crocata), *Semen Strychni* (Extractum Strychni siccum, Tinctura Strychni). Als Ionenaustauscher werden IMAC-C 22 und zur Isolierung von Morphin in Opium und seinen Präparaten Amberlite IRA-400 verwendet. Mit Hilfe beider Harze kann eine erfolgreiche Trennung der Alkaloide von Ipecacuanhae Radix in ihre phenolischen und nichtphenolischen Bestandteile erzielt werden. Auf dem gleichen Wege werden die 6 Hauptalkaloide des Opiums (Codein, Morphin, Narcein, Narcotin, Papaverin und Thebain) getrennt. Es werden einige Beispiele für die Durchführung von Analysen der genannten Drogen gegeben: *Bestimmung der Gesamtalkaloide* (*Tinctura Chinae*). 5 g der Proben werden mit 50 ml 70%igem Äthanol und 1 Tr. 4n Salzsäure versetzt und mit einer Fließgeschwindigkeit von 12 Tr./min über eine chromatographische Säule (⌀ 13 mm) geleitet, die mit 20 ml IMAC-C 22 (H-Form) bepackt ist. Man wäscht das Harz mit einem Gemisch aus 50 ml 70%igem Äthanol und 1 Tr. 4n Salzsäure, danach mit 50 ml 50%igem Äthylalkohol, verdrängt den Alkohol durch Wasser und wäscht zur Entfernung des Farbstoffs mit 100 ml Waschflüssigkeit (70 ml 10%ige NH_3-Lösung + 4 ml 4n Salzsäure + 26 ml Wasser). Anschließend wird mit Wasser chloridfrei gewaschen, die Alkaloide werden mit 100 ml einer 1n Lösung von NH_4OH in 96%igem Äthanol eluiert, das Eluat eingedampft (Wasserbad), der Rückstand in 5 ml 96%igem Äthanol gelöst, mit 5 ml Wasser verdünnt und

[1] Arzneimittel-Forsch. 7, 63—65 (1957). Pharmaz. Inst. Univ. München.

[2] Gazz. chim. ital. 86, 1324—1331 (1956). Lab. Chim. terapeut., Rom (Italien).

[3] Pharmac. Weekbl. 92, 1—24 (1957) [Holländisch]. Lab. Artsenijbereidk., Amsterdam (Holland).

potentiometrisch titriert. — *Bestimmung von Hydrastin* (Extractum Hydrastis liquidum). 2,5 g der Probe werden mit 50 ml 70%igem Äthanol versetzt, die erhaltene Lösung in der oben beschriebenen Weise entwickelt. Man wäscht das Harz mit 50 ml 50%igem Äthanol, verdrängt den Alkohol durch Wasser, wäscht zur Entfernung von Berberin und Farbstoff mit 150 ml Waschflüssigkeit und setzt die Analyse wie oben angegeben fort. Man verdünnt das Eluat mit Wasser, schüttelt mit Chloroform aus, dampft die Chloroformextrakte ein, löst den Rückstand in 5 ml 96%igem Äthanol, verdünnt mit 5 ml Wasser und titriert unter Verwendung von Bromphenolblau als Indicator oder potentiometrisch. — *Bestimmung von Morphin* (Tinctura Opii). 2,5 g der Tinktur werden mit 50 ml 70%igem Äthanol und 1 Tr. 4n Salzsäure versetzt und wie oben angegeben entwickelt. Das Harz wird mit 50 ml 70%igem Äthanol gewaschen, der Alkohol in der Säule durch Wasser verdrängt, das Morphin mit 100 ml 1n wäßriger NH_3-Lösung vom Harz gelöst. Man verdampft das Eluat zur Trockne, löst den Rückstand in 50 ml 50%igem Methanol und leitet die Lösung mit einer Fließgeschwindigkeit von 8 Tr./min über eine Säule (⌀ 13 mm), die mit 20 ml Amberlite IRA-400 (OH-Form) bepackt ist. Man wäscht das Harz mit 50 ml 50%igem Methanol, verdrängt den Alkohol durch Wasser, eluiert mit 100 ml 1n Essigsäure und bestimmt das Morphin in einem aliquoten Teil des Eluats colorimetrisch nach der von VAN ARKEL[2] angegebenen Methode. — *Trennung der Alkaloide in Radix Ipecacuanhae* (Tinctura Ipecacuanhae). Die aus 40 g der Probe nach dem oben angegebenen Verfahren erhaltenen Gesamtalkaloide werden in 50 ml 50%igem Äthanol gelöst. Man leitet die Lösung über Amberlite IRA-400, wäscht mit 50 ml 50%igem Äthanol nach und titriert in den vereinigten alkoholischen Eluaten die nichtphenolischen Alkaloide (Emetinbase) mit 0,1n Salzsäure unter Verwendung von Bromphenolblau als Indicator. Nachdem der Alkohol in der Säule durch Wasser verdrängt worden ist, löst man die phenolischen Alkaloide (Cephaelin) mit 100 ml 1n Salzsäure vom Harz, verdampft das Eluat im Vakuum zur Trockne und bestimmt den Rückstand gewichtsanalytisch. — *Trennung der 6 Hauptalkaloide des Opiums.* Man mischt 1 g der Probe sorgfältig mit 100 ml 0,1n Salzsäure und filtriert die Lösung durch einen Trichter über einen Baumwollpfropf in die chromatographische Säule, die mit IMAC-C 22 beschickt ist. Mit 50 ml Wasser wird nachgewaschen. Man entwickelt mit 50 ml 70%igem Äthanol, verdrängt den Alkohol mit Wasser und eluiert erst *Morphin* und *Narcein* (Fraktion I), danach das *Codein* (Fraktion II) mit jeweils 100 ml 1n wäßriger NH_3-Lösung. *Narcotin, Papaverin und Thebain* (Fraktion III) werden mit 100 ml einer 1n Lösung von NH_4OH in 96%igem Äthanol vom Harz gelöst. Die einzelnen Fraktionen werden eingedampft, die Rückstände in 100 ml 50%igem Methanol (Fraktion I) bzw. 50 ml 0,1 n Salzsäure (Fraktionen II und III) gelöst. Man leitet die methanolische Lösung nacheinander über 2 Austauschersäulen (Amberlite IRA-400), wäscht beide Säulen zur Entfernung des Farbstoffs mit 50 ml 50%igem Methanol, verdrängt den Alkohol durch Wasser, eluiert mit 100 ml 0,1 m Essigsäure-Ammoniumacetatpuffer (p_H 4,6) und bestimmt das Morphin in einem aliquoten Teil des Eluats colorimetrisch nach VAN ARKEL[1]. Das *Narcein* wird mit 50 ml Essigsäure-Ammoniumacetatpuffer (p_H 4,0) vom Harz gelöst, das Lösungsmittel verdampft und der Rückstand gravimetrisch bestimmt. Die salzsauren Lösungen von Fraktion II und III werden über IMAC-C 22 geleitet. Man wäscht das Harz mit 50 ml Wasser, danach zur Entfernung des Farbstoffes mit 50 ml Waschflüssigkeit. Anschließend wird mit Wasser chloridfrei gewaschen. Das *Codein* wird mit 100 ml einer 1 n Lösung von NH_4OH in 96%igem Äthanol eluiert und nach Verdampfen des Lösungsmittels gewichtsanalytisch bestimmt. Papaverin, Narcotin und Thebain werden nacheinander mit 50 bzw. 150 ml 0,1 m Ammoniak-Ammoniumacetatpuffer in 80%igem

[1] VAN ARKEL, C. G.: Pharmac. Weekbl. **72**, 366 (1935).

Äthanol (p_H 8) und 50 ml einer 1 n Lösung von NH_4OH in 96%igem Äthylalkohol vom Harz gelöst und nach Verdampfen der Lösungsmittel gravimetrisch bestimmt. — Wegen weiterer Einzelheiten in der Durchführung der Bestimmung von Alkaloiden in den oben genannten Rohdrogen und deren Präparaten kann auf ausführliche Arbeitsvorschriften in der Originalarbeit verwiesen werden.

K. Machner

A. Fischer[1] gibt folgende Anweisung für die *Alkaloidbestimmung mittels eines stark basischen Anionenaustauschers.* Man schüttelt 10—15 g Dowex 2 (Handelsware) mit 100 ml 5%iger Natronlauge wiederholt durch, dekantiert und wäscht mit Wasser aus, bis dieses lackmusneutral reagiert. Dann bringt man das aktivierte Austauscherharz in einen 200 ml-Schliffkolben, übergießt es mit einer Lösung von 0,2—1 mmol des Alkaloidsalzes in 5—10 ml dest. Wasser, erwärmt auf 50° C und schüttelt 3 min lang kräftig. Nun setzt man 25 ml Methanol zu, schüttelt wieder 3 min lang, bringt dann den Inhalt des Kolbens in ein 20 cm langes Glasfilter G 1 (Allihnsches Rohr) mit Auslaufhahn und filtriert. Die ersten 20 ml des Eluates gibt man auf das Filter zurück, dann prüft man auf Abwesenheit von Anionen und spült den Rest des Harzes aus dem Kolben mit 2mal 20 ml Methanol von 45° C in das Filter. Schließlich spült man das Harz nochmals mit 20 ml 50%igem Methanol nach, verdünnt das Gesamteluat mit 30—40 ml dest. Wasser und titriert die Alkaloide mit Bromkresolgrün als Indicator mit 0,1 n Salzsäure bis zum Umschlag von Blau nach Gelb. — *Morphin* (und Narcein) wird von Dowex 2 quantitativ adsorbiert. Zu seiner Trennung von Nebenalkaloiden verfährt man zunächst wie beschrieben, wobei man aber die Filtriergeschwindigkeit auf 3—5 ml/min herabsetzt, und wäscht bis zum Verschwinden der Reaktion mit Phosphorwolframsäure oder Kalignost im Eluat mit Methanol nach. Im Eluat ermittelt man die Alkaloide durch Titration nach dem angeführten Verfahren. Das Morphin eluiert man mit 50%iger Essigsäure bei einer Filtrationsgeschwindigkeit von höchstens 3 ml/min und fällt es nach bekannten Verfahren mit 2,4-Dinitrofluorbenzol. Den nach 2 Std im Kühlschrank auskristallisierten Niederschlag filtriert man ab, wäscht ihn 2mal mit je 1,5 ml Aceton und wiegt nach einstündigem Trocknen bei 75° C.

Für die elektrophoretische Bestimmung der Hyoscyamus-Alkaloide verwenden R. Paris und G. Faugeras[2] das Gerät von Machebœuf. In Anlehnung an eine im Jahre 1955 von den Verff.[3] für die Bestimmung der Leguminosenalkaloide bekanntgegebenen Methode wird bei 20° ± 1° C, einer Spannung von 10 V/cm und einer Stromstärke von 0,5 mA/cm 1—2 Std lang in Veronal-Veronalnatriumpuffer von p_H 8,6 oder in Ammoniak von p_H 12 elektrolysiert. Neben den Tropeinen lassen sich hierbei Spuren von Tropin und eine flüchtige Base abtrennen. Die Sichtbarmachung der Alkaloidflecke erfolgt durch Besprühen der Streifen mit Dragendorff-Reagens, die quantitative Ermittelung durch Planimetrieren der hierbei entstandenen Farbflecke. Die bei Anwendung des beschriebenen Verfahrens erhaltenen Werte erreichen größenordnungsmäßig die der Pharmacopoea Internationalis, während nach der Methode der Pharmacopée Française 1949 zu hohe Alkaloidwerte erhalten werden.

K. Söllner

H. Sprince und G. R. Rowley[4] untersuchen das *Anregungs- und Fluorescenzspektrum des Chinins* mit dem Aminco-Bowman Spektralphotofluorimeter[5]. Das

[1] Dtsch. Apotheker-Ztg. **1957**, 23—25. Nürnberg.

[2] Ann. pharmac. franç. **14**, 537—541 (1956). Fac. Pharmac., Paris.

[3] Paris, R., und G. Faugeras: Ann. pharmac. franç. **13**, 359 (1955).

[4] Science (Lancaster, Pa.) **125**, 25—26 (1957). Univ. Minneapolis, Minn. (USA).

[5] Instruction Manual, Aminco-Bowman spectrofluorometer.

Anregungsmaximum wird mit diesem Gerät bei 365 mμ gemessen, das Maximum der Fluorescenz bei 450 mμ. Im Vergleich zu anderen Instrumenten (Farrand Spektralphotofluorimeter Modell C, Beckman DU) ist das Anregungsmaximum (= Absorptionsmaximum) um 15 mμ nach längeren Wellen verschoben. Die Verfasser nehmen darum für ihre Messungen einen korrigierten Wert für das von ihnen benutzte Aminco-Bowman Spektralphotofluorimeter. Bei Chinin verändert sich die Lage dieser beiden Maxima von 0,005—10 μg Chinin/ml nicht; die Eichkurve (Intensität der Fluorescenz gegen Konzentration) verläuft von 0,005—0,1 μg/ml linear. Das steht in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen, die bei der Chininbestimmung mit dem Spekker-Fluorimeter erhalten worden sind. H. Specker

Die papierchromatographische (p-chr) Identifizierung und Trennung pharmazeutisch gebrauchter Alkaloide, insbesondere der Chinabasen Chinin, (A), Chinidin (B), Cinchonin und Cinchonidin in galenischen Präparaten beschreibt J. Reichelt[1]. Man verwendet Papiere von Whatman Nr. 1 oder 2 oder von Sch. & Sch. Nr. 2043a, die mit frisch bereiteter Formamid-Äthanollösung (1:1) getränkt sind, entweder im üblichen Format oder als 2 cm breite Streifen. Als mobile Phasen dienen (I) Chloroform (Chlf), (II) Chlf-Benzol (Bzl) (7:3, v/v), (III) Chlf-Bzl (1:1, v/v), (IV) Chlf-Bzl (3:7, v/v), (V) Chlf-Toluol (6:4, v/v), (VI) Chlf-Xylol (6:4, v/v). Zur Erkennung der Alkaloidflecke bestrahlt man die bei 105—120° C getrockneten P-chr mit UV-Licht, wobei A und B blau (durch Besprühen mit 20%iger Essigsäure verstärkt), *Colchicin* (C) ockergelb, *Emetin* schwach blau und *Yohimbin* grünlichblau fluorescieren. Außer C erscheinen alle in Frage kommenden Alkaloide beim Besprühen der P-chr mit modifiziertem Dragendorff-Reagens als braune Flecke. Zur Trennung der Chinabasen erweisen sich die Systeme II und V als am geeignetsten. *Yohimbin, Physostigmin, Pilocarpin, Emetin, Strychnin, Brucin* und C zeigen bei der Entwicklung mit System I günstige Trenneffekte, wobei noch die Aufspaltung einer Strychnin-Brucinmischung im Verhältnis 25:1 eindeutig gelingt. Bei der Anwendung anderer Systeme tritt oft ein Platzwechsel der Alkaloide auf dem P-chr ein. Die Arbeit enthält ausführliche Angaben über die Bedingungen für die Erreichung reproduzierbarer R_f-Werte und zahlreiche Vorschriften für die p-chr Aufarbeitung von Arzneispezialitäten sowie 54 Literaturzitate.

Die nichtwäßrige Titration von Morphin, Thebain, Papaverin, Hydrocotarnin und Codein oder seinen Hydrierungsprodukten führen H. Sakurai und E. Awada[2] nach folgender *Technik* aus. Man löst etwa 20 mg eines der Alkaloide in einer Chloroform-Phenolmischung und titriert gegen Methylorange als Indicator mit einer 0,005 n Lösung von p-Toluolsulfonsäure (I) in einer Mischung von Äthylenglykol und Isopropanol (1:1). Mit Phenol-Chloroform lassen sich auch die Alkaloide aus ihren pharmazeutischen Zubereitungen extrahieren. Die Lösung von I kann auch in Chloroform, Essigsäure oder Dioxan erfolgen, doch muß in diesem Falle die hohe Dichte dieser Lösungsmittel bei der Berechnung des Verbrauches an Titrationslösung berücksichtigt werden. Diese beträgt bei Äthylenglykol-Isopropanol das 2,5fache, bei den übrigen das 3—4fache von der des Wassers.

Die quantitative Mikrobestimmung der Mutterkornalkaloide in einzelnen Sklerotien oder deren Teilen führen K. Macek und S. Vaněček[3] nach folgendem *Verfahren* durch. Man zerreibt einen Teil des Sklerotiums mit der 5fachen Gewichtsmenge an feinstem Quarzsand und entfettet das Gemisch 4 bis 8 Std im Mikroextraktor oder 50 bis 96 Std durch Perkolation mit Petroläther (Fraktion bis

[1] Pharmazie **11**, 718—724 (1956). Pharm. Kontr.-Inst. (KÚF), Prag.

[2] J. pharmac. Soc. Japan **76**, 1026—1030 (1956) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.-fass. refer.) Sankyo Co., Ltd, Tokyo (Japan).

[3] Pharmazie **10**, 422—429 (1955). Forsch.-Inst. Pharm. Biochem., Prag (ČSR).

50° C). Nach kräftigem Absaugen der Petroläthertreste gibt man zu der Verreibung 3 Tropfen 1,5 n Ammoniak, mischt gut durch und extrahiert 3 bis 5 Std mit 25 ml Narkoseäther. Der Äther wird nun bei Normaltemperatur im Vakuum abgesaugt, der Rückstand in genau 1 ml Äthanol gelöst. Dann trägt man auf einem Streifen Whatman-Papier Nr. 1 oder 2 bzw. KVK des Forschungsinstitutes für Papierindustrie in Prag eine 20 mg Sklerotium entsprechende Menge der äthanolischen Alkaloidlösung (bei Vorhandensein von wenig wasserlöslichen Alkaloiden die doppelte Menge) auf den Startpunkt des Papieres auf. Daneben setzt man in gleicher Menge ein in Äthanol gelöstes Standardgemisch von *Ergocornin, Ergocristin, Ergokryptin, Ergotamin, Ergotaminin, Ergosin, Ergobasin, Ergobasinin, Lyserg- und Isolysergsäure*. Für semiquantitative Bestimmungen wird dieses Gemisch 4mal, und zwar in den Konzentrationen 1, 5, 10 und 20 μg aufgetragen. Nach dem Trocknen des Lösungsalkoholes und Imprägnieren des Papieres mit Formamid[1] entwickelt man 6 bis 7 Std bei Zimmertemperatur auf eine Länge von 55—60 cm mit Benzol-Benzingemisch (6:4). Nach dem Verdunsten der mobilen Phase im Dunkeln wertet man das Chromatogramm rasch im UV-Licht aus, bringt es sofort in eine mit Chloroform gesättigte Kammer und entwickelt 15 Std lang im Durchlauf mit Chloroform. Hierbei laufen die *wasserunlöslichen Alkaloide* durch und die *wasserlöslichen* trennen sich genügend auf, um einzeln im UV-Licht ausgewertet werden zu können. Die Arbeit enthält weiterhin Anweisungen für die Durchführung der quantitativen Bestimmung der Gesamtalkaloide sowie der quantitativen und semiquantitativen chromatographischen Analyse der Einzelalkaloide.

Für die papierchromatographische Auftrennung der Mutterkornalkaloide eignet sich nach K. Macek, M. Semonský, S. Vaněček und A. Černý[2] deren Entwicklung mit dem System Benzol-Benzin 6:4[3] auf mit Formamid getränktem Papier. Bei Anwendung dieser Technik gelang Verff. die Isolierung eines bisher unbekannten Secalealkaloides, das vorläufig von ihnen EK 115 genannt wurde. Die Charakterisierung der Mutterkornalkaloide läßt sich ebenfalls papierchromatographisch durchführen, indem man diese hydrolysiert und die hierbei entstehenden Aminosäuren identifiziert.

J. Kolšek[4] führt die *quantitative Bestimmung der wasserunlöslichen Mutterkornalkaloide auf papierchromatographischem Wege* durch. Unter Zugrundelegung der Verfahren von Macek u. Mitarb.[5] verwendet Verf. als Entwicklungssysteme Benzol/Formamid (A) oder Benzol-Petroläthergemisch (6:4)/Formamid (B). Bei einstündiger aufsteigender Chromatographierung mit A auf mit Zunge versehenen Papierstreifen von 1 cm Breite und 20 cm Länge erfolgt zunächst die Aufteilung der Alkaloide in folgende 4 Gruppen: 1. Lyserg- und Isolysergsäure + Lumiergotamin; 2. Ergotamin + Ergosin; 3. Ergotaminin, Ergosinin + linksdrehende Alkaloide der Ergotoxingruppe; 4. Ergocristinin, Ergocorninin, Ergokryptinin. Nach der Markierung dieser Gruppen im UV-Licht schneidet man die entsprechenden Abschnitte aus, eluiert sie und entwickelt die eingedampften Eluate der einzelnen Gruppen absteigend auf langen Papierstreifen mit System B, wobei die Auftrennung in die Einzelalkaloide erfolgt. Diese lokalisiert man wieder im UV-Licht, schneidet

[1] Macek, K., A. Černý u. M. Semonský: Pharmazie **9**, 388 (1954); vgl. diese Z. **154**, 456 (1957); siehe auch Macek, K. u. Mitarb.: vgl. diese Z. **150**, 240 (1956).

[2] Naturwissenschaften **42**, 647 (1955). Forsch.-Inst. Pharm. Biochem., Prag (ČSR).

[3] Macek, K., und S. Vaněček: Pharmazie **10**, 422 (1955); vgl. das vorst. Referat.

[4] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1662—1671. Univ. Ljubljana (Jugoslawien).

[5] Macek, K., und S. Vaněček: Pharmazie **10**, 422 (1955); K. Macek, M. Semonský, S. Vaněček und A. Černý: Naturwissenschaften **42**, 647 (1955); vgl. die obigen Referate.

die Flecken aus und extrahiert sie nach der Technik von M. PÖHM und L. FUCHS[1] mit einem Gemisch von Weinsäure- und p-Dimethylaminobenzaldehydlösung. Nach einigem Stehen werden die Blauwerte der filtrierten Auszüge im lichtelektrischen Colorimeter gemessen. Das Original enthält keine eigentliche Arbeitsvorschrift, sondern führt zahlreiche Einzelheiten an, die für die Durchführung der Trennungen von Wichtigkeit sind.

J. KOLŠEK[2] *berichtet ferner über die papierchromatographische quantitative Bestimmung von Ergotamin, Ergosin, Ergocristin, Ergocornin, Ergokryptin und ihren rechtsdrehenden Stereoisomeren in Mutterkorn* nach einem früher[3] von ihm beschriebenen Verfahren. Verf. zeigt an Hand der von ihm ermittelten Werte der Einzelalkaloide, daß das bisher übliche Verfahren, den nach VAN URK bestimmten Wert für die Gesamtalkaloide auf Ergotamin oder Ergotoxin umzurechnen, keinesfalls für die Beurteilung einer Secaledroge in bezug auf ihre Eignung für therapeutische oder fabrikatorische Zwecke ausreicht und zu Mißverständnissen führen kann. Denn abgesehen davon, daß mit der genannten Methode auch die Lysergsäure und die pharmakologisch kaum wirksamen rechtsdrehenden Alkaloide mit erfaßt werden, zeigen die in Tabellen zusammengestellten Befunde, daß auch Drogen gleicher Herkunft in der Zusammensetzung ihrer Alkaloidkomponenten beträchtliche Schwankungen aufweisen können.

Zur Charakterisierung der Mutterkorn-Alkaloide Ergosinin (I), Ergocorninin (II) und Ergokryptopinin (III) können nach J. KOLŠEK[4] *die Kofflerschen Thermomikromethoden dienen.* Verf. findet folgende Konstanten: Mikroschmelzpunkte I 217 bis 222° C, II 229—230° C, III 236—237° C. Eutektische Temperaturen mit a) Salophen und b) Dicyandiamid: Ia) 177—178° C, b) — 193° C, IIa) 181—182° C, b) — 198° C, IIIa) — 178° C, b) 199—200° C. Läßt man die Chloroformlösungen der Alkaloide auf Objektträgern unter Erwärmen verdunsten, so bleiben die Alkaloide als glasige Rückstände zurück, die bei der Befeuchtung mit organischen Lösungsmitteln charakteristische Kristallformen annehmen. So ergibt I mit Äther (+ Ae) flache dachförmige oder gekerbte Prismen, mit Äthanol (+ A) gerade oder schräg begrenzte Prismen und Stengel, mit Methanol (+ M) Stengel und derbe Prismen; II + Ae Spindeln und flächenartige Kristalle, + A gestreckte Sechsecke, Stäbchen und Stengel, + M Sechsecke mit zwei Prismenflächen; III + Ae Spindeln, Rosetten und Stengel, + A Nadeln und zugespitzte Stengel, + M Nadeln, gefiederte und treppenartige Kristalle.

Die Halbmikrobestimmung der Mutterkornalkaloide Ergometrin-maleat (I), Ergotamin-bitartrat (II) und -tartrat (III) läßt sich nach L. ŠAFAŘÍK und W. BUMBA[5] durch deren Titration in nichtwäßriger Lösung durchführen. Man löst 60 mg I in 10 ml Eisessig und titriert nach Zusatz von 1 Tropfen 0,2%iger Lösung von Kristallviolett in Essigsäure aus einer Mikrobürette mit 0,05 n Perchlorsäure in wasserfreier Essigsäure, die gegen Kaliumhydrogenphthalat eingestellt worden ist. 1 ml der Titriersäure = 0,0220735 g I, der Fehler beträgt ± 0,4%. Von II und III wägt man etwa 100 mg ein und verfährt wie beschrieben. 1 ml 0,05 n $HClO_4$ entspricht 0,036587 g II (Fehler ± 0,6%) bzw. 0,0328347 g III (Fehler ± 0,5%).

---

[1] Naturwissenschaften **40**, 244 (1953); vgl. diese Z. **150**, 239 (1956).

[2] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1679—1684.

[3] KOLŠEK, J.: Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1500; vgl. diese Z. **156**, 231 (1957).

[4] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1783—1787. Univ. Ljubljana (Jugoslawien) u. Lab. Dr. A. Kofler, Innsbruck (Österreich).

[5] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **96**, 3—6 (1957). Pharmaz. Kontrollinst. Prag (ČSR).

Die papierchromatographische Trennung der Aconitalkaloide und die spektrophotometrische Bestimmung von Aconitin (I) und Benzoylaconin (II) beschreiben V. K. Mital und E. Mühlemann[1]. Man extrahiert 12 g gepulverte Aconitknollen nach der von C. G. van Arkel und M. Meijst[2] modifizierten Methode der Ned. Ph. V, nimmt den Extraktionsrückstand 2mal in je 5 ml Äther auf, verdampft diesen wieder auf dem Wasserbad, löst schließlich den Rückstand unter Erwärmen in 3 ml absolutem Alkohol (A) und filtriert durch ein kleines Filter in ein 5 ml-Meßkölbchen. Unter Nachspülen wird mit A bis zur Marke aufgefüllt. Je 0,04 ml dieser Lösung bringt man je 2 cm vom Rande entfernt auf die Startlinie eines 14,3 × 46,3 cm großen Whatman Nr. 1-Papierstreifens, der vorher im absteigenden Verfahren 24 Std mit 1%iger Salzsäure gewaschen, getrocknet und in gleicher Weise mit dest. Wasser bis zur Chlorfreiheit nachgewaschen und wieder getrocknet worden ist. Die Klimatisierung der 23,5 × 20 × 47 cm großen Kammer erfolgt durch Einstellen je einer Schale mit den beiden Phasen einer Mischung von 24 Volumen frisch destilliertem Amylalkohol, 26 Vol. 25%iger Ameisensäure und 30 Vol. Benzin mit den Siedegrenzen 85—91° C, während als mobile Phase die obere Schicht des gleichen frisch bereiteten Gemisches dient. Man beginnt 48 Std nach der bei 20° C durchgeführten Klimatisierung mit der absteigenden Entwicklung, wobei I innerhalb von 14 Std eine Laufstrecke von etwa 30 cm durchmißt (R_f etwa 0,62) und II den R_f-Wert etwa 0,47 besitzt. Die übrigen Alkaloide zeigen wesentlich kleinere R_f-Werte und sind nicht scharf getrennt. Nun stellt man auf einem nach 2—3 stündiger Trocknung abgeschnittenen Streifen mit dem Bezugschromatogramm durch Besprühen mit Dragendorff-Reagens nach R. Munier und M. Macheboeuf[3] die Alkaloide als orangerote Flecke fest und schneidet die entsprechenden Streifen von I und II sowie einen gleich großen Streifen unterhalb der Startlinie aus (Skizze im Original). Die Eluierung der 3 Streifen erfolgt mit 1%iger Salzsäure nach der Technik von Brindley[4], bis je 5 ml Eluat abgetropft sind. Die Bestimmung von I und II führt man durch photometrische Ermittelung der Extinktionen der Lösungen bei 233—234 mμ im Vergleich mit denen von Lösungen bekannter Alkaloidkonzentrationen aus, wobei der Wert der Blindprobe abgezogen werden muß. Der Fehler beträgt höchstens $\pm$ 5% (Tabellen im Original). Sinngemäß erfolgt die Bestimmung der genannten Alkaloide *in pharmazeutischen Zubereitungen aus Tuber-Aconiti.*

Die papierchromatographische Trennung von Reserpin (R.) und seinen bei Alkalieinwirkung entstehenden Abbauprodukten R.-Säure (I), Trimethoxybenzoesäure (II) und R.-Skelet (III) läßt sich nach M. Langejan und H. F. L. Lieferink[5] nach folgendem *Verfahren* durchführen. Man löst 10 mg R. oder das Gemisch seiner Hydrolysenprodukte in 1 ml Chloroform, bringt hiervon 0,1 ml auf den Startpunkt eines Papierstreifens (Whatman Nr. 1) und entwickelt aufsteigend mit einer Mischung von 9 ml Butanol, 47 ml Butylacetat, 16 ml Wasser und 28 ml Eisessig. Nach 18 Std Laufzeit trocknet man das Chromatogramm an der Luft und bestrahlt es mit UV-Licht. R (mit R_f etwa 0,97), I (R_f 0,84) und III (R_f 0,56—0,62) sind durch ihre Fluorescenz erkennbar, II fluoresziert nicht. Die von den Verff. nach diesem Verfahren durchgeführte Untersuchung von 4 aus dem Handel bezogenen R-Proben ergibt in allen Fällen einen Flecken mit R_f 0,38, der von einem fremden Alkaloid zu stammen scheint. K. Söllner

[1] Pharmac. Acta Helvetiae **31**, 420—427 (1956). Univ. Bern (Schweiz).
[2] Pharmac. Weekbl. **88**, 46 (1953).
[3] Bull. Soc. Chim. biol. **31**, 1144 (1949); vgl. diese Z. **132**, 431 (1951).
[4] J. Pharmacy Pharmacol. **3**, 801 (1951).
[5] Pharmac. Weekbl. **91**, 847—850 (1956). Rijksuniv. Utrecht (Holland).

4. Analyse von biologischem Material

In einer Arbeit über Flammenspektrophotometrie und die Bestimmung der Ionen von Na, K, Ca und Mg in Plasma und Gewebe geht R. VALENCIA[1] auf das leidige Problem der gegenseitigen Beeinflussung der Analysenpartner ein. Nach einer Behandlung der hierbei auftretenden bekannten Verstärkungs- und Abschwächungseffekte beschreibt der Verf. sein Analysenverfahren. Dies besteht darin, daß für jedes der verschiedenen Elemente gesonderte Testlösungen hergestellt werden, welche die der Analysensubstanz entsprechenden Mengen an störenden Elementen enthalten. Phosphor und Magnesium müssen colorimetrisch bestimmt werden. J. VAN CALKER

Zur komplexometrischen Bestimmung des Calciums im Blut fällt A. STEBER[2] es zunächst als Oxalat, löst den Niederschlag wieder in Säure und gibt Zinkäthylendiamintetraacetat hinzu. Die frei gewordene, dem Calcium äquivalente Menge Zink wird mit Dinatriumdihydrogenäthylendiamintetraacetat (ÄDTA) bei p_H 10 bis 11 gegen Eriochromschwarz T titriert. — Die Methode hat gegenüber der Permanganattitration den Vorteil, daß die Streuungen geringer sind und die Werte besser dem klinischen Bild des Patienten entsprechen. — *Ausführung.* Zu 2 ml Serum gibt man 5—6 ml Wasser und 2 ml gesättigte Natriumoxalatlösung, läßt 6—12 Std stehen und zentrifugiert. Man gießt ab, löst mit 1 ml 1 n Salzsäure, gibt $^1/_4$ Indicatorpuffertablette (Merck, zur Härtebestimmung des Wassers), 2 ml 10%ige Ammoniaklösung und 5 ml Wasser hinzu und titriert mit einer 0,001 m ÄDTA-Lösung bis zum Umschlag nach Graugrün. Gegebenenfalls wird eine Blindbestimmung mit den Reagentien durchgeführt. — Man verwendet bidestilliertes Wasser und Flaschen aus Polyäthylen. G. DENK

Zum qualitativen Nachweis von Nitrit und Nitrat in sehr verdünnten Lösungen (z. B. *Milch, Serum, Urin*) empfiehlt F. A. STEENSMA[3] die Verwendung von Benzidin als Reagens. — *Nachweis von Nitrit.* Einige Milliliter der Probelösung werden mit mindestens dem gleichen Volumen einer Lösung von 100 mg Benzidin in 5 ml Essigsäure versetzt. Bei Anwesenheit von Nitrit entsteht je nach Nitritkonzentration eine rote, orangefarbene bzw. gelbe Farbsalzlösung. Es lassen sich noch 0,0002 mg NO_2/ml bei einer Schichtdicke von 1 cm einwandfrei nachweisen. Die Reaktion kann auch im Maßstab der Tüpfelanalyse durchgeführt werden. — *Zum Nachweis von Nitrat* werden 4 ml der Probelösung mit 1 ml 1 n Natronlauge und einer Spatelspitze Zinkpulver (zur Reduktion des Nitrats) versetzt und zum Sieden erhitzt. Sobald die Wasserstoffentwicklung nachläßt, wird filtriert, das Filtrat mit 1 ml Eisessig angesäuert und wie bereits beschrieben auf Anwesenheit von Nitrit geprüft. Die Reduktion des Nitrats zu Nitrit ist unter den angegebenen Bedingungen nicht quantitativ. Bei einer Schichtdicke von 1 cm lassen sich noch 0,02 mg NO_3/ml Lösung nachweisen. — *Zum Nachweis von Nitrit und Nitrat nebeneinander* wird zunächst der Nitritnachweis in der beschriebenen Weise geführt. Anschließend versetzt man einen anderen Teil der Probelösung zur Entfernung von Nitrit mit Salzsäure und Harnstoff, und prüft nach Aufhören der Gasentwicklung in einem aliquoten Teil der erhaltenen Lösung auf Abwesenheit von Nitrit (dazu wird die Lösung erst alkalisiert, danach mit Eisessig angesäuert und mit Reagenslösung versetzt). In der nitritfreien Lösung erfolgt der Nachweis von Nitrat wie beschrieben. K. MACHNER

---

[1] Bull. Soc. Chim. biol. **38**, 1071—1081 (1956), Inst. Biol. Phys. Chim., Paris.

[2] Mercks Jber. **69**, 30—38 (1956). Städt. Krankenanstalten, Darmstadt.

[3] Chem. Weekbl. **1957**, 110—111 [Holländisch]. Natuur-T. N. O., Arnhem (Holl.).

Eine Bestimmungsmethode von Äthanol, die auch zum Nachweis von Alkohol im Blut dienen kann, beschreiben E. Pfeil und H.-J. Goldbach[1]. Der Alkohol wird katalytisch zu Acetaldehyd oxydiert und dieser dann colorimetrisch bestimmt. — *Arbeitsweise.* 0,1 bzw. 0,2 ml Äthanol werden in einem Mikroschiffchen im Glasrohr bei 60—70° C im Verlauf von 1 Std verdampft und durch einen gleichmäßigen Luftstrom (700—800 ml Luft/Std mittels Mariottescher Flasche) über eine auf etwa 280° C erhitzte galvanisch verkupferte Heizdrahtspirale geleitet, die vorher zur Bildung von Kupferoxyd an der Luft zum Glühen gebracht worden war. Der entstandene Acetaldehyd wird in einer eisgekühlten Mischung aus 0,5 ml einer 0,85%igen Natriumnitroprussidlösung und 0,5 ml einer 8%igen Lösung von Morpholin in 0,1 n Salzsäure aufgefangen und gibt mit diesem Reagens eine Blaufärbung. Die Farbintensität ist der Alkoholmenge proportional, sie wird innerhalb 10 min nach Abschluß der Reaktion im einfachen Colorimeter bestimmt.

Eva Neuhaus

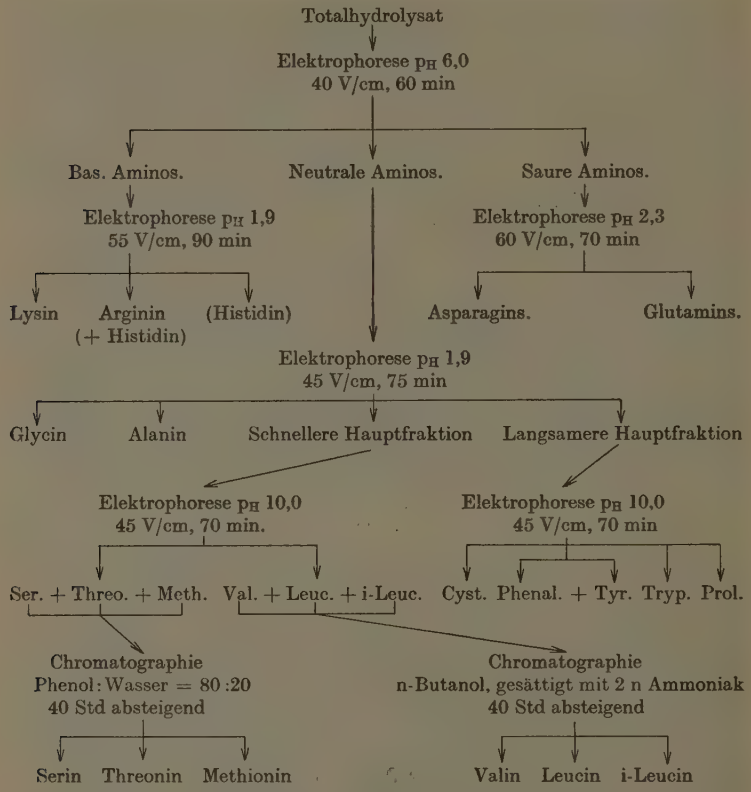
Zur photometrischen Bestimmung kleinster Mengen Brenztraubensäure im Blut haben G. Rindi und G. Ferrari[2] das von T. E. Friedemann und G. E. Haugen[3] angegebene Verfahren umgearbeitet. — *Ausführung.* Das Blut wird unter ständigem Rühren in einem kleinen Becher aufgefangen, der den Trockenrückstand von 0,5 ml Reagenslösung nach C. Long[4] enthält. (Man löst 0,84 g Citronensäure in 10 ml Wasser, stellt durch Zugabe von 40%iger Natronlauge auf den gewünschten p_H-Wert ein, gibt 200 mg Cetavlon [Cetyl-trimethylammoniumbromid, Imp. Chem. Industry] und 210 mg Natriumfluorid zu und verdünnt mit Wasser auf 20 ml. Jeweils 0,5 ml der erhaltenen Lösung werden in 25 ml-Becher übergeführt und im Vakuum zur Trockne verdampft.) In diesen Becher bringt man das zu untersuchende Blut und rührt gut, um das Reagens zu lösen und das Blut zu hämolysieren. 0,1 ml dieser Flüssigkeit wird in einem Reagensglas (65×9,7 mm) mit 1 ml 6%iger Trichloressigsäure sorgfältig verrührt und nach 15 min mit 3500 U/min 10 min lang zentrifugiert. Man gießt die überstehende Lösung in ein Reagensglas (110×12 mm) ab, verrührt den Rückstand mit 0,9 ml 6%iger Trichloressigsäure und wiederholt die Extraktion in der beschriebenen Weise. Man läßt die vereinigten Extrakte 5 min bei 25° C stehen (Wasserbad), gibt 0,2 ml einer 0,25%igen Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 2 n Salzsäure zu, schüttelt gut durch, fügt nach genau 5 min 2 ml mit Wasser gesättigtes Toluol hinzu und schüttelt 90 sec kräftig. Man zentrifugiert 5 min bei 3500 U/min, entfernt die wäßrige Phase (Pasteurpipette), schüttelt die Toluolschicht 90 sec mit 3 ml 10%iger Na_2CO_3-Lösung und zentrifugiert erneut 5 min. 2 ml der Carbonatschicht werden mit 1 ml 1,2 n Natronlauge versetzt. Man läßt 15 min stehen und bestimmt die Extinktion der erhaltenen Lösung bei 445 mμ. Vergleichslösung ist Wasser. Ein Blindversuch wird entsprechend durchgeführt. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet. Im Bereich von 0—4 μg Brenztraubensäure folgt die Kurve dem Beerschen Gesetz.

K. Machner

Aminosäuren. *Eine Methode zur quantitativen Aminosäure-Totalanalyse von Proteinhydrolysaten mittels Hochspannungspherographie und Retentionsanalyse* wurde von K. Dose und A. Caputo[5] angegeben. Der Gang der verwendeten Methode ist in Tab. 1 (S. 150) wiedergegeben. Hierzu wird die Proteinprobe (10 mg) zunächst mit 5 n Salzsäure 18 Std bei 100° C hydrolysiert, die Salzsäure im Vakuum-

[1] Klin. Wschr. **1957**, 191—192. Inst. gerichtl. soz. Med. Marburg/Lahn.
[2] Experientia (Basel) **12**, 398—399 (1956). Univ. Pavia (Italien).
[3] J. biol. Chemistry **147**, 415 (1943).
[4] Biochemic. J. **38**, 447 (1944).
[5] Biochem. Z. **328**, 376—385 (1956). Max-Planck-Inst. Biophysik, Frankfurt/M.

Tabelle 1. *Totalanalyse eines Aminosäurehydrolysates. Trennungsgang*



exsiccator über konz. Schwefelsäure und KOH verjagt und ein aliquoter Teil (5 mg entsprechend) in 1—5%iger Lösung als 25 cm langer Strich auf Schl. & Sch.-Papier Nr. 2043b aufgetragen, das zuvor mit Pufferlösung (p_H 6,0) angefeuchtet war. Die Auftragung wird dann noch beiderseits mit Probelösung um 2 cm verlängert, so daß darin auftretende Randeffekte später abgeschnitten werden können. Dann wird die Elektrophorese nach der Methode von Th. Wieland[1] ausgeführt und mit Ninhydrin (2%ig in n-Butanol) entwickelt. Die ausgeschnittenen Hauptfraktionen werden mit Wasser am hängenden Streifen eluiert (Abb. 1). Zur Retentionsanalyse nach Th. Wieland und E. Fischer[2] wird jede einzelne eluierte Aminosäure als kleiner Fleck 3 cm vom Rand eines mit Pyridinpuffer getränkten Bogens in Abständen von 5 cm vom Flecken aus Vergleichsproben bekannter

[1] Angew. Chem. **67**, 257 (1955).
[2] Naturwissenschaften **35**, 29 (1948); vgl. diese Z. **135**, 63 (1952).

Aminosäuremengen aufgetragen, der Bogen zum Zylinder gerollt, kurz getrocknet und zunächst $^1/_2$ Std im Dampf der Retentionslösung äquilibriert. Der Zylinder wird dann erst in die Lösung (2 cm Höhe) eingesetzt und 3 Std entwickelt. Nach dem Trocknen wird mit Rubeanwasserstofflösung (1%ig in 90%igem Aceton) besprüht und planimetriert. 20—80 μg werden auf 5% genau erfaßt. Zur Untersuchung von Lysozym werden als Pufferlösungen verwendet: für p_H 1,9: 15% Eisessig und 5% Ameisensäure in Wasser, für p_H 2,3: 2n Essigsäure, für p_H 6,0: 10% Pyridin und 1% Essigsäure in Wasser, für p_H 10: 0,5% Ammoniumcarbonatlösung mit 5 n Ammoniaklösung auf p_H 10 eingestellt. Als Retentionslösung dient das Gemisch aus Dioxan-Eisessig-Wasser im Verhältnis 100 : 0,8 : 1,5 mit 2,5 $^0/_{00}$ Kupferacetat-Monohydrat. Die an Lysozym gewonnenen Ergebnisse stimmen mit solchen in mikrobiologischer Technik vorzüglich überein. Abweichungen werden erörtert. K. Cruse

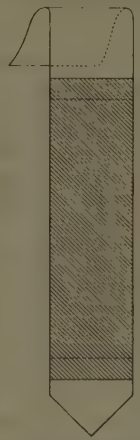


Abb. 1. Eluierstreifen nach Dose u. Caputo

Eine Methode zur qualitativen Vorbestimmung der Aminosäuren im Eluat nach säulenchromatographischer Trennung gibt K. H. Menke[1] an. Auf vorgezeichnetes Papier (Schl. & Sch. 2045b Gl) trägt man aus jeder Eluatfraktion so viel auf (~ 0,01 ml), wie durch Capillarkräfte in der Spitze einer eichfähigen Mikropipette hängen bleiben. Der Fleck besitzt dann einen Durchmesser von rund 1 cm. Nach dem Trocknen besprüht man mit einer Lösung aus 95% Butanol, 5% 2n Essigsäure und 0,2 g Ninhydrin und trocknet 5 min bei 105°C. Die jeweils zu einer Aminosäure gehörenden Eluatfraktionen sind gut zu erkennen und werden zur photometrischen Bestimmung zusammengegossen. Wegen der Probeentnahme muß 1% zum Wert addiert werden. Mit der Methode sind noch 3 μg Alanin nachweisbar. Bei Prolin und Oxyprolin versagt die Methode wegen der geringen Empfindlichkeit von Ninhydrin den beiden Aminosäuren gegenüber. Aus dem gleichen Grund ist auch Na-β-Naphthochinonsulfonat (Folins Reagens) nicht anwendbar. Man muß in diesem Bereich jede Fraktion einzeln photometrieren.

Über die Chromatographie von Aminosäuren auf Ionenaustauschersäulen[2] berichten R. Müller und G. Krampitz[3]. Nach den Angaben von S. Moore und W. H. Stein[4] werden Aminosäurengemische aus 16 Aminosäuren mit Dowex 50 X8 (Na-Form, 200—400 mesh) aufgeteilt. Der p_H-Wert der Probelösungen soll bei 100 cm-Säulen 2—3, bei 15 cm-Säulen 4—5 betragen, die Temperatur bei 20 $\pm$ 3°C liegen. In käuflichem Lysindihydrochlorid, das papierchromatographisch nur einen Fleck gibt, waren noch 3 andere ninhydrinpositive Substanzen nachweisbar, vielleicht 2 Hydroxylysine und Ornithin. Ein Histidindihydrochlorid (papierchromatographisch einheitlich) teilte sich in 4 Komponenten, zwei technische Präparate, Lysinsulfat und Butyryllysin gaben auch mehrere Fraktionen. Ähnliche Erscheinungen zeigen sich auch bei anderen Aminosäuren.

[1] Naturwissenschaften **44**, 10—11 (1957); Univ. Bonn.

[2] Vgl. dazu Müller, R., und G. Krampitz: Z. Tierernähr. Futtermittelkunde **10**, 223 (1955).

[3] Z. Tierernähr. Futtermittelkunde **11**, 44—53 (1956).

[4] J. biol. Chemistry **192**, 663 (1951); **211**, 907 (1954); vgl. diese Z. **136**, 371 (1952); **148**, 305 (1955/56).

R. Müller *und* G. Krampitz[1] *beschreiben die chromatographische Analyse basischer Aminosäuren (Histidin und Lysin) im Hydrolysat von Eiweißkörpern mittels Ionenaustauschern.* Es handelt sich um eine Modifikation bekannter Verfahren, wobei Verff. an eine vorausgehende Mitteilung[2] anknüpfen. Der Gehalt an Histidin und Lysin in Hydrolysaten von Rinderserumalbumin, Magermilchpulver und Gerste wird bestimmt. Die gefundenen Werte stimmen mit den aus der Literatur bekannten überein. Bei den hier nicht interessierenden nichtbasischen Aminosäuren findet sich bei Gerste ein Doppelgipfel, der vielleicht durch α- und β-Aminobuttersäure bedingt ist. — *Ausführung.* Zur Trennung der beiden basischen Aminosäuren genügt eine 15 cm hohe Säule aus Dowex 50X8 (375 mesh). Histidin erscheint in den Fraktionen 65—80 und Lysin in 85—100. Reaktionsgemisch zum Färben: 1. 1 g Ascorbinsäure, reinst, und 1 g Ninhydrin p. a. werden in 160 ml Äthylenglykolmonomethyläther gelöst. 2. 20 g Ninhydrin p. a. werden in 1 l Äthylenglykolmonomethyläther gelöst. 3. 4 n Natriumacetatpuffer. Vor Gebrauch mischt man die Lösungen in angegebener Reihenfolge im Verhältnis 1 : 2 : 1. 1 ml der Mischung wird mit der Probe gut durchgeschüttelt und genau 15 min im siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen setzt man 15 ml Äthanol-Wasser (1 : 1) zu und schüttelt nochmal 30 sec kräftig.

Über den papierchromatographischen Nachweis von Homocystein neben verwandten schwefelhaltigen Aminosäuren berichten E. Strack, W. Friedel und K. Hambsch[3]. Die R_f-Werte von Methionin, Homocystein, Homocystin, Cystein und Cystin liegen in den verschiedensten Lösungsmitteln teilweise sehr nahe beieinander, teilweise sind sie infolge Fahnenbildung auch noch ungenau. Die beiden Sulfhydrylverbindungen bilden mit Formaldehyd im Verhältnis 1 : 1 sehr beständige Kondensationsprodukte, die sich gut trennen lassen. Diese Kondensationprodukte geben die Reaktion nach T. E. McCarthy und M. X. Sullivan[4]. Unter 10 geprüften Lösungsmitteln erweist sich im aufsteigenden Verfahren Butanol/Ameisensäure/Wasser (77 : 10 : 13) am günstigsten. Die R_f-Werte auf Papier Wf 1 der Firma Geßner und Kreuzig, Niederschlag (Erzgebirge) sind folgende: Methionin 0,61, Homocystein 0,18 mit Fahne bis 0,30, Homocystin 0,19, Cystein 0,05 mit Fahne bis 0,20, Cystin 0,05, Homocystein + Formaldehyd 0,43, Cystein + Formaldehyd 0,34. Wegen Schwerlöslichkeit werden von Homocystin und Cystin die Hydrochloride verwendet. Nach Trocknen macht man die Flecken durch Besprühen mit 0,2%iger Ninhydrinlösung in Butanol/2 n Essigsäure (95 : 5) sichtbar. Bei schnellem Trocknen (110°C) tritt bei Methionin gleich ein blauvioletter Farbton auf, beim Kondensationsprodukt mit Homocystein zunächst ein grauer und bei dem mit Cystein ein gelblicher. Nach mehrtägigem Liegen gehen auch diese Flecken in blauviolett über.

E. Strack, W. Friedel *und* K. Hambsch[5] *teilen eine Methode zur Bestimmung kleiner Mengen von Methionin und ein Verfahren zur Bestimmung von Formaldehyd im Gewebe mit.* Es handelt sich um eine Verbesserung der Methode zur Methioninbestimmung von T. E. McCarthy und M. X. Sullivan[6], bei der dadurch ein Fehler entsteht, daß ein Kondensationsprodukt mit gemessen wird, das sich aus dem Homocystein und Formaldehyd des Gewebes bildet und bei der Farbenreaktion

[1] Z. Tierernähr. Futtermittelkunde **11**, 227—231 (1956). Univ. Bonn.

[2] Müller, R., und G. Krampitz: Z. Tierernähr. Futtermittelkunde **11**, 44 (1956); vgl. das vorstehende Referat.

[3] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **305**, 166—169 (1956). Univ. Leipzig.

[4] J. biol. Chemistry **141**, 871 (1941).

[5] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **305**, 237—247 (1956).

[6] J. biol. Chemistry **141**, 871 (1941).

fast genau so reagiert wie Methionin. Nach eingehenden Untersuchungen konnte dieser Fehler ausgeschaltet und gleichzeitig eine Methode zur Formaldehydbestimmung entwickelt werden. Sie beruht auf dem verschiedenen Verhalten von Methionin und der Homocystein-Formaldehydverbindung. Diese ändert in saurem Medium unter Zersetzung ihre Färbung mit Nitroprussidnatrium, so daß dann Methionin allein bestimmbar wird. — *Ausführung. Methioninbestimmung.* 8 ml Homogenat werden mit 0,8 ml 30%iger Trichloressigsäure enteiweißt, 5 min im siedenden Wasserbad erhitzt, abgekühlt und filtriert. 4 ml Filtrat versetzt man mit 0,4 ml 5n Natronlauge, sofort mit 0,4 ml frisch bereiteter 1%iger Natriumnitroprussidlösung, hält 8 min unter wiederholtem Umschütteln im Wasserbad bei 38—40° C und stellt die Lösung dann 10 min in Eiswasser. Nach Ansäuern mit 2 ml eines Gemisches aus 9 Teilen konz. Salzsäure + 1 Teil 85%iger Phosphorsäure wird die Probe $^1/_2$ min heftig geschüttelt und 3 Std im Wasserbad bei 30° C gehalten. Nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur mißt man die Extinktion bei 510 mμ und entnimmt die Methioninwerte einer unter gleichen Bedingungen aufgestellten Eichkurve. — *Formaldehydbestimmung.* Die Versuchslösung wird auf p_H 5 gebracht, mit einem Überschuß von Homocystein versetzt und 1 Std im Wasserbad unter Verschluß auf 40° C erwärmt. 4 ml behandelt man dann wie bei Methionin beschrieben mit dem Unterschied, daß man nach dem $^1/_2$ min langen Schütteln 1 min bei Raumtemperatur stehen läßt, die Extinktion bei 510 mμ mißt und dann nochmals wie oben nach 3 Std Stehen bei 30° C. Die Differenz der beiden Messungen ergibt aus einer entsprechend angelegten Eichkurve die Formaldehydmenge. Ist sicher kein Methionin vorhanden, kann die zweite Ablesung unterbleiben.

C. Dumazert, C. Ghiglione und M. Bozzi-Tichadou[1] geben *eine colorimetrische Methode zur Mikrobestimmung von Tyrosin* an. Die Methode beruht auf der Trennung von *Tyrosin* zusammen mit *Phenylalanin* und *Tryptophan*, die beide nicht stören, von den anderen Aminosäuren, besonders *Histidin*, durch Adsorption an Kohle, Elution und Kupplung mit Diazo-2,4,6-tribrombenzol. Der hier entstehende Farbstoff ist bedeutend intensiver gefärbt als bei der Kupplung mit Diazobenzolsulfosäure nach Pauly. — *Ausführung.* 100 mg Eiweiß werden mit 10 ml sehr reiner 6n Salzsäure im zugeschmolzenen Rohr 18 Std bei 110° C hydrolysiert. Das Hydrolysat wird im Vakuum zur Trockne gebracht, in einigen ml Wasser aufgenommen und wieder im Vakuum getrocknet. Diesen Vorgang wiederholt man 3mal, bis die freie Salzsäure entfernt ist. Den Rückstand nimmt man in 10 ml mit Schwefelwasserstoff gesättigter, 5%iger Essigsäure auf und chromatographiert an einer Kohlesäule aus Activit 50 XP nach C. Fromageot, M. Jutisz und E. Lederer[2]. Nach Waschen der Säule mit 35 ml obiger Essigsäure eluiert man mit 150 ml Wasser, das mit Äthylacetat und Schwefelwasserstoff gesättigt ist. Das Eluat wird im Vakuum zur Trockne gebracht und in 25 ml 0,7 n Schwefelsäure gelöst. In ein bei 10 ml markiertes Reagensglas gibt man höchstens 5 ml der Probelösung, die 30—160 μg Tyrosin enthalten soll (falls es weniger als 5 ml sind, füllt man mit Wasser auf 5 ml auf), setzt 1 ml Diazotribrombenzolreagens (siehe unten) zu, mischt und füllt nach 5 min mit einer 20%igen Lösung von wasserfreiem Natriumcarbonat auf 10 ml auf. Nach dem Mischen wird 35 min im kochenden Wasserbad erhitzt, wobei man das Reagensglas mit einer Glasampulle bedeckt, um die Verdampfung einzuschränken. Nach Abkühlen unter der Wasserleitung mißt man bei 525 mμ gegen einen Blindwertansatz, bei dem Tyrosin durch Wasser ersetzt ist. Mit Proben von 30 –150 μg Tyrosin stellt man sich eine Eichkurve her, die man zur Auswertung benutzt. Die Fehlerbreite der Methode ist maximal $\pm$ 2%. — *Reagentien.* Diazo-2,4,6-tribrom-

[1] Bull. Soc. Chim. biol. **38**, 1083—1088 (1956). Fac. Méd. et Pharm., Marseille.
[2] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **2**, 487 (1948).

benzollösung; 200 mg Tribromanilin, das man nach R. RIEDEL[1] herstellen kann, löst man in 2 ml konz. Schwefelsäure (D 1,83), fügt nach völligem Lösen 0,5 ml Wasser zu, mischt und kühlt im Eisbad. Dann löst man 50 mg Natriumnitrit in 2 ml der gleichen Schwefelsäure, die man auf einmal schnell zugießt. Durch mehrmaliges Umgießen ineinander mischt man die beiden Lösungen und gießt sie dann in 60 ml Eiswasser. Nach Mischen filtriert man und bringt mit Eiswasser auf 100 ml. Dieses Reagens hält sich bei + 4° C einige Stunden. Die Natur des mit Tyrosin gebildeten Farbstoffes wird diskutiert, und es wird eine Formel dafür vorgeschlagen.
E. MÜLLER, Würzburg

Zur Bestimmung kleiner Mengen Histamin neben viel Histidin reichern A. BODÁNSZKY, J. HOLLÓS und A. NÉMETH[2] das Histamin durch Eindampfen der beim Kristallisieren von Histidin verbliebenen alkohol. Mutterlauge an. Die Mutterlauge wird im Vakuum bei 60° C eingetrocknet, der Rückstand in Alkohol suspendiert, das Filtrat auf ungefähr 1 ml eingeengt, mit 0,1 ml 0,1 n Natronlauge versetzt und in einem Stückchen (etwa 0,5 cm^2) Papier (Macherey-Nagel 661) aufgesaugt. Nach Trocknen im warmen Luftstrom wird das Papier an einen Streifen Macherey-Nagel 214-Papier genäht und mit einem Lösungsmittelgemisch von Äthanol-n-Butanol-Wasser (1 : 4 : 5) absteigend 40 Std lang chromatographiert. Das im warmen Luftstrom getrocknete Chromatogramm wird mit 0,2%iger alkohol. Ninhydrinlösung besprüht, im Luftstrom getrocknet und 10 min auf 110° C erwärmt. Die von Histidin und Histamin stammenden Flecke sind scharf abgetrennt, die ersten violett, die letzten rosafarbig. Es können 10—20 μg Histamin je g nachgewiesen und aus der Größe und Farbtiefe der Flecke durch Vergleich mit Kontrollversuchen die Mengenverhältnisse annähernd festgestellt werden.
J. PLANK

Eine Zusammenfassung über die Entwicklung analytischer Methoden für einige biologische Tryptophanabbauprodukte bringt D. COPPINI[3]. Die im Laufe der Zeit entwickelten Methoden zur *Bestimmung von Kynurensäure (I), Xanthurensäure (II), Kynurenin (III), 3-Hydroxykynurenin (IV), Anthranilsäure (V) und 3-Hydroxyanthranilsäure (VI)* werden kritisch besprochen. Hierbei geht Verf. besonders auf die Möglichkeit ein, papierchromatische Methoden zur Bestimmung heranzuziehen. Er stellt Versuche mit den reinen Substanzen an und erhält mit dem Partridge-Gemisch Butanol/Eisessig/Wasser (4 : 1 : 5) folgende R_f-Werte: IV 0,31; III 0,40; II 0,54; I 0,55; VI 0,89; V 0,93. Durch zweites Chromatographieren mit Wasser geben die beiden nicht getrennten Verbindungen die R_f-Werte: II 0,46 und I 0,64. Die Elution und photometrische Auswertung dieser 6 reinen Testlösungen bei den ihnen entsprechenden Absorptionsmaxima ergibt zufriedenstellende Resultate, wie die in einer Tabelle zusammengestellten Ergebnisse beweisen. Es soll versucht werden, diese Methode auf biologisches Material zu übertragen. Auf die Bedeutung dieser Stoffwechselprodukte des Tryptophans für diagnostische Zwecke wird hingewiesen.
E. MÜLLER, Würzburg

Die turbidimetrische Titration von Blutserumproteinen mit Schwermetallsalzen wird nach S. A. KIBARDIN und T. N. DAVYDOVA[4] wie folgt durchgeführt: 0,2 ml Blutserum (Hämolyse vermeiden) werden zu 1 ml Pufferlösung gegeben (am gebräuchlichsten ist der universale Acetat-Veronalpuffer, p_H 8,7). Man füllt mit dest. Wasser auf 10 ml auf und titriert mit $CuSO_4 \cdot 5H_2O$-Lösung oder $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$-

[1] Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **56**, 243 (1906).

[2] Magyar Kémiai Folyóirat **62**, 317—318 (1956) [Ungarisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Pharmazeut. Forsch. Inst. und chem Fabr. „Chinoin", Budapest.

[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1956**, 1818—1828. Univ. Modena (Italien).

[4] Laborat. Delo **1957**, H. 1, 3—6 [Russisch]. Pasteur-Inst. für Epidemiologie, Mikrobiologie u. Hygiene, Leningrad.

Lösung (25 mg Salz/Liter) in Portionen zu je 5 ml, wonach jedesmal die optische Dichte der Lösung elektrophotocolorimetrisch bestimmt wird. Die aufgezeichneten Kurven (Opt. Dichte/ml Reagens) sind im aufsteigenden Teil kennzeichnend für verschiedene Erkrankungen (Kurven und Tabelle im Original). A. v. WILPERT

Über eine einfache Methode zur Untersuchung von Peptiden, die Cystin und/oder Cystein enthalten, berichtet N. R. LING[1]. Sie beruht auf der Tatsache, daß Cystein und Cystin von Kationenaustauschern festgehalten werden, Cysteinsäure aber nicht. Peptide, die diese Aminosäuren enthalten, verhalten sich ebenso. Es wird mit Wasserstoffperoxyd oxydiert. Methionin bildet ein Sulfon, das vom Austauscher festgehalten wird. — *Ausführung.* Das Dialysat von 5 ml geronnenem Menschenblut wird 1 min mit 2 g Amberlite IR 120 (H-Form) geschüttelt. Durch Mischen mit Wasser und Absaugen der überstehenden Flüssigkeit nach Absetzen wird gewaschen. Man setzt 100 Volumen Wasserstoffperoxyd (3%? Ref.) zu, läßt 6—18 Std stehen, filtriert auf 0,1 g Amberlite IRA 400 (Acetatform) und schüttelt 1 min. Nach dem Waschen mit Wasser setzt man 0,1 ml 3n Salzsäure zu, läßt 1 min stehen und bringt die überstehende Flüssigkeit bei 22°C zur Trockne. Der Rückstand wird auf Whatman Papier Nr. 31 in 0,1 m Diäthylamin-Essigsäurepuffer, p_H 3,6, 3 Std der Elektrophorese bei einer Potentialdifferenz von 200 V unterworfen. Nach Trocknen und Besprühen mit Ninhydrin werden 2 Flecken sichtbar: Cysteinsäure und oxydiertes Glutathion. Auf ähnliche Weise läßt sich in Kartoffelextrakt Glutathion nachweisen. Harn enthält zu viel störende Substanzen. Vorherige Chromatographie mit Butanol-Eisessig und Verwendung des Eluats verbessert die Methode. Bluthydrolysate und Kartoffelextrakte enthalten nur Cysteinsäure, Glycin und Glutaminsäure, Harnextrakte zusätzlich α-Alanin und Asparaginsäure. E. MÜLLER, Würzburg

Eine Methode zur Bestimmung von Lysozym geben T. H. LORENZ, D. R. KORST, J. F. SIMPSON und M. J. MUSSER[2] an. Das Prinzip beruht auf der Trübungsmessung, ausgedrückt in Prozenten Durchlässigkeit einer Suspension abgetöteter Bakterien, die von dem bakteriolytischen Ferment aus Schleim aufgelöst werden. Es handelt sich um eine Modifikation der Methode von N. E. GOLDSWORTHY und H. FLOREY[3]. — *Ausführung.* Etwa 1 ml Schleim (Sputum, oder durch Ansaugen gesammelter Schleim der Luftwege) werden mit 25 ml isotonischer Natriumchloridlösung gemischt. Zur Fällung von Lysozym werden 5 ml dieser Verdünnung mit 50 ml Aceton 2 Std geschüttelt und 48 Std bei 5°C belassen. Dann zentrifugiert man 20 min bei 3500 U/min, dekantiert den Überstand und wiederholt das Zentrifugieren 3 mal. Den Rückstand bringt man mit Aceton in ein Wägeglas, trocknet mit Luft und bringt bei 55°C im Vakuum zur Gewichtskonstanz. Auf den Rückstand bezieht sich die Bestimmung. Er wird unter öfterem Schütteln nach und nach durch Zugabe von 10 bis 20 ml-Portionen im Phosphatpuffer p_H 6,2 (Difco-Bacto-Lysozympuffer) ausgezogen und der Extrakt mit dem Puffer auf 100 ml aufgefüllt. Ferner stellt man eine Standardsubstratlösung aus einer UV-getöteten Trockenkultur von Micrococcus lysodeikticus (Difco-Bacto-Lysozymsubstrat) in dest. Wasser her. Je genau 5 ml einer Verdünnungsreihe des Lysozympufferextrakts von 1:20, 1:50, 1:100, 1:200, 1:1000 und 1:2000 werden mit 5 ml der Substratlösung in Spektrometerküvetten 20 min bei Raumtemperatur inkubiert. Bei 540 mμ mißt man die Durchlässigkeit in Prozenten gegen Wasser = 100%. Mit einem kristallisierten Standardlysozympräparat (Difco Lysozym) aus frischem Eiklar[4] bereitet man mit obigem Puffer Verdünnungen von 1:400000, 1:750000, 1:800000, 1:1200000, 1:1600000,

[1] Nature (London) **178**, 1054—1055 (1956), Manor Hospital, Bath (England).
[2] J. Lab. clin. Med. **49**, 145—150 (1957). Univ. Hospitals, Madison, Wis. (USA).
[3] Brit. J. exp. Pathol. **11**, 192 (1930).
[4] SMOLELIS, A. N., and S. E. HARTSELL: J. Bacteriol. **63**, 665 (1952).

1:3200000 und 1:6400000 und stellt mit der Standardsubstratlösung eine Eichkurve her, aus der die Werte der Proben entnommen werden können. Die maximale Streuung beträgt 4,2%, die durchschnittliche 2,2%. In 2 Tabellen sind gefundene Lysozymwerte bei verschiedenen Krankheiten zusammengestellt.

E. Müller, Würzburg

Die colorimetrische Bestimmung von Kohlenhydraten mit dem Anthronreagens bearbeitet M. Bühler[1]. *Blutzucker.* Man hämolysiert 1 ml Blut mit 4,5 ml dest. Wasser, enteiweißt durch Zusatz von je 0,2 ml 2,4%iger Natronlauge und 10%iger Zinksulfatlösung und zentrifugiert. 2mal 2 ml Zentrifugat versetzt man langsam unter Kühlen und Schütteln mit je 4 ml Anthronreagens (0,2% Anthron in 95%iger Schwefelsäure), erhitzt 7 min lang im siedenden Wasserbad, kühlt rasch und ermittelt die Extinktion U bei 620 mμ mit Filter S 61 gegen den Leerwert der Reagentien. Nach Bestimmung der Extinktion S einer Lösung von 20 μg Glucose/ml auf gleiche Weise (6 min Erhitzungsdauer!) errechnet sich der Milligramm-Prozentgehalt des Blutes an Glucose nach der Formel: $100 \times U/S$. Antikoagulantien stören nicht. — *Glykogen.* Man bringt 10—30 mg mit Filtrierpapier getrocknetes Gewebe in ein Zentrifugenspitzglas mit 0,5 ml heißer 30%iger Kalilauge, erwärmt einige Minuten im siedenden Wasserbad, bläst nach 15 min 5 ml 96%igen Alkohol in das Hydrolysat und läßt über Nacht stehen. Dann zentrifugiert man 20 min lang mit 3000 U/min, entfernt sorgfältig die überstehende Flüssigkeit, trocknet den Rückstand bei 80—90°C, löst ihn in 2,5 ml Wasser und verfährt weiter wie oben beschrieben. Berechnung: $50 \times U/1{,}11 \times S$ = Milligramm-Prozent Glykogen. Begleitstoffe stören nicht, außer Ascorbinsäure, die eine blutrote Farbe gibt. Fructose und Inulin reagieren bereits bei Zimmertemperatur. Andere Zucker zeigen unterschiedliche Farbtiefen (Maltose 105%, Galaktose 54% des Glucosewertes). Eine Lösung von 300 mg Anthron in 10 ml Eisessig (erwärmen!), 20 ml Äthanol, 3 ml Phosphorsäure (D 1,6) und 1 ml dest. Wasser gibt als Sprühreagens bei Papierchromatogrammen nach 5 min langem Trocknen bei 108°C mit Ketohexosen tiefgelbe, mit Ketopentosen tiefrote Farbflecke.

K. Söllner

Eine Methode zur Mikrobestimmung von Blutzucker, die nicht auf Reduktion beruht, teilt R. S. Martin[2] mit. Das Prinzip besteht im Abbau der Glucose durch Schwefelsäure und Intensivierung des Farbkomplexes der Abbauprodukte (Furfural) mit Schwefelsäure durch Phloroglucin. Damit handelt es sich um eine Modifikation der Methode von B. Mendel und M. Bauch[3]. Die neu angegebene Enteiweißung entfernt alle störenden Substanzen. — *Ausführung.* 0,05 ml Gesamtblut werden in einem Spitzzentrifugenglas in 1,85 ml einer isotonischen Lösung aus 9,6 g Natriumsulfatdekahydrat und 2,1 g Kupfersulfatpentahydrat in 350 ml Wasser gegeben. Man setzt 0,1 ml Natriumwolframatlösung (10 g/100 ml Wasser) zu, mischt durch rollende Bewegung und zentrifugiert mit 2000 U/min vom Eiweiß- und Kupferwolframatniederschlag ab. Man kann auch einen Filtereinsatz zum Zentrifugenglas nach F. Hecht und M. Zacherl[4] benutzen, dann zentrifugiert man den im Einsatz gemischten Ansatz mit 1000 U/min. 1 ml klare Flüssigkeit (= 0,025 ml Blut) pipettiert man in ein bezeichnetes Reagensglas. Es werden Standardlösungen hergestellt, die in 100 ml 64, 80, 120 und 160 mg Glucose enthalten, indem man 0,8; 1,0; 1,5 und 2,0 ml einer Glucosestammlösung, die in 100 ml gesättigter Benzoesäurelösung 0,2 g Glucose enthält, mit Wasser auf 100 ml verdünnt. Von diesen Standardlösungen und von Wasser als Blindwert pipettiert man

[1] Röntgen- u. Laborat.-Praxis **10**, 2—4 (1957). Univ. Tübingen.

[2] Chemist-Analyst **45**, 73—75 (1956). Hosp. Ment. Diseas. Brandon, Man (Canada).

[3] Klin. Wschr. **5**, 1329 (1926).

[4] Handbuch der mikrochemischen Methoden, Bd. I, Teil 1, S. 17. Wien 1954.

je 1 ml in ein Reagensglas. Die Gläser kommen in ein kaltes Wasserbad und jedes wird mit 3,0 ml konz. Schwefelsäure versetzt. Nach Mischen bringt man sie für 7 min in ein kochendes Wasserbad, dann wieder in ein kaltes und gibt in jedes Glas 1,0 ml einer Phloroglucinlösung, die 0,4 g in 100 ml Wasser enthält (nur 1 Woche im Kühlschrank haltbar). Nach 7 min langem Erwärmen im Wasserbad auf 37° C mißt man unmittelbar bei 450 mμ gegen den Blindwert. Aus den Werten der Standardlösung stellt man eine Eichkurve her. Die Abweichung der Resultate von denen anderer Methoden beträgt etwa 2—10%. E. Müller, Würzburg

Harnindole. C. E. Dalgliesh[1] berichtet über die *zweidimensionale Papierchromatographie von Harnindolen und verwandten Substanzen.* Harnextrakte, die die aromatischen Stoffwechselprodukte enthalten, werden durch Adsorption an deaktivierte Kohle, Elution mit wäßrigem Phenol und Einengen dieses Eluats nach C. E. Dalgliesh[2] hergestellt. Dieses Konzentrat unterwirft man im absteigenden Verfahren der zweidimensionalen Papierchromatographie auf 46 × 56 cm Bögen von Whatman-Papier Nr. 1. Zuerst läßt man die lange Seite mit der organischen Phase von frisch bereiteten n-Butanol/Essigsäure/Wasser (4:1:5, Partridge-Gemisch) am besten über Nacht (etwa 15 Std) laufen. Nach dem Trocknen wird mit 20%iger (Gew./Vol.) Kaliumchloridlösung rechtwinklig dazu 3—4 Std entwickelt. Das Sichtbarmachen erfolgt nach früher mitgeteilten Verfahren[2,3]. In einer Tabelle sind 36 Verbindungen, die als Tryptophanabkömmlinge im Harn nachgewiesen sind, oder als solche in Frage kommen könnten, mit ihren R_f-Werten in den beiden Lösungsmitteln zusammengestellt. In einer zweiten finden sich die entsprechenden Werte 18 anderer biologischer, im Harn nachgewiesener Substanzen. In einer Abbildung („map of the spots") sind die Flecken der wichtigsten Tryptophanstoffwechselendprodukte nach diesem Verfahren wiedergegeben.

R. Rodnight[4] beschreibt die *Trennung und Charakterisierung von Harnindolen, die 5-Hydroxytryptamin und Tryptamin gleichen.* Durch Papierchromatographie mit 6 verschiedenen Lösungsmitteln und biologische Austestung am Meerschweinchenileum wird das Vorkommen von 5-Hydroxytryptamin und Tryptamin im Harn Gesunder sehr wahrscheinlich gemacht und damit der Befund von B. M. Twarog und I. H. Page[5] bestätigt. Die Tagesausscheidung liegt für beide Verbindungen bei 45—120 μg. N-Methyl-5-hydroxytryptamin und Bufotenin ließen sich nicht nachweisen. Verf. isoliert die Indolderivate mit Ionenaustauschersäule aus Zeo-Karb 226 (H-Form) und befreit den Vakuumtrockenrückstand des Eluats mit Alkohol-Aceton von anorganischen Salzen. Die Auftrennung erfolgt papierchromatographisch oder an der Cellulosepulversäule. Bestimmt werden die Indolderivate durch Vergleich der blauen Flecken, die mit Ehrlichs Aldehydreagens entstehen, mit denen von authentischen Substanzen, oder spektrophotometrisch bei 560 mμ. Die Modifikationen bekannter Verfahren und die ins einzelne gehenden, umfangreichen Beschreibungen der Versuche mögen im Original eingesehen werden.

E. Müller, Würzburg

Serotonin und andere Indolkörper lassen sich, wie K. Schreier und K. Gaedtke[6] mitteilen, auf Papierchromatogrammen durch Reaktion mit Xanthydrol nachweisen. Hierbei bildet sich ein tiefblauer Farbstoff, der mit Essigsäure-Methanol

[1] Biochemic. J. **64**, 481—485 (1956). Postgrad. Medical School, London W. 12.

[2] J. clin. Path. **8**, 73 (1955).

[3] Dalgliesh, C. E.: Biochemic. J. **52**, 3 (1952); Arch. Biochem. Biophysics **58**, 214 (1955).

[4] Biochemic. J. **64**, 621—626 (1956). Maudsley Hospital, London S. E. 5.

[5] Amer. J. Physiol. **175**, 157 (1953).

[6] Naturwissenschaften **43**, 130 (1956). Universitätskinderklinik Heidelberg.

eluierbar und bei 580 mμ colorimetrisch bestimmbar ist. Phenole geben hierbei eine Rotfärbung, Tryptophan eine Rosafärbung. Die Nachweisgrenze für Indolverbindungen liegt bei 1 μg, die untere Grenze für die colorimetrische Bestimmung beträgt 5 μg. Das Lambert-Beersche Gesetz ist bis zu 100 μg erfüllt. — *Arbeitsweise.* Serotonin wird auf Whatmanpapier Nr. 1 mit Butanol-Eisessig-Wasser (4 : 1 : 1) absteigend chromatographiert. Nach dem Trocknen des Papierstreifens an der Luft besprüht man diesen mit einer Mischung von 10%iger methanolischer Xanthydrollösung und Eisessig (1 : 1). Nach neuerlicher Trocknung bringt man den Streifen in Salzsäurenebel. Bei Anwesenheit von Serotonin oder anderen Indolverbindungen entsteht ein tiefblauer Farbfleck. Das übrige Papier färbt sich vorübergehend gelb. Man schneidet nun den Farbfleck aus, eluiert ihn mit Eisessig-Methanol (2 : 1) und mißt die Extinktion der entstandenen Lösung bei 580 mμ.

G. Kainz

Eine neue Methode zur Serotinbestimmung im Urin wird von K. Gaedtke und K. Schreier[1] angegeben. Das Serotonin (*5-Oxytryptamin*) wird an Aktivkohle gebunden, anschließend acetyliert, mit Äthylacetat von der Kohle gelöst, papierchromatographisch weiter isoliert, mit Xanthydrol auf dem Chromatogramm nachgewiesen und nach dem Eluieren photometrisch bestimmt. — *Arbeitsweise.* 100 ml Urin werden mit Eisessig auf p_H 4 eingestellt. Zur Adsorption bringt man 20 g Aktivkohle in eine nach unten spitz zulaufende Glasröhre, die mit Glaswolle zugestopft ist. Die Körnung des Granulats soll so gewählt werden, daß 100 ml Urin die Säule in etwa 3 Std passieren. Mit 40 ml Wasser wird nachgewaschen. Man eluiert die meisten Indol- und Phenolkörper mit 200 ml eines Äthanol-Eisessiggemisches (4:1). Die Kohle wird im Vakuum getrocknet und zur Acetylierung des Serotonins 1 Std lang mit 30 ml Essigsäureanhydrid gekocht. Darauf werden 30 ml 96%igen Alkohols zugegeben. Man läßt etwa 10 min stehen, wäscht die Kohle auf einer Nutsche 5mal mit je 40 ml Äthylacetat, verdampft die vereinigten Äthylacetatextrakte im Vakuum bei 50° C bis fast zur Trockne und gibt zum Eindampfrückstand 1,5 ml Äthylacetat. Der Niederschlag wird abzentrifugiert, die überstehende braune Flüssigkeit auf ein bestimmtes Volumen gebracht. Ein aliquoter Teil davon wird auf Filterpapierstreifen (Whatman Nr. 1) aufgetragen. Man entwickelt unter Verwendung von Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:1) als beweglicher Phase. (Der R_f-Wert von acetyliertem Serotonin liegt bei 0,9.) Die Streifen werden an der Luft getrocknet, mit einem Gemisch von 10%igem methanolischem Xanthydrol und Eisessig (1:1) besprüht und nach erneutem Trocknen in Salzsäuredampf gebracht. Dabei wird der Flecken des acetylierten Serotonins grünblau. Nach einigen Minuten schneidet man den Farbfleck aus, eluiert mit Eisessig-Methanol (2:1) und mißt die Extinktion der erhaltenen Farbsalzlösung bei 640 mμ. An Hand einer Eichkurve wird ausgewertet.

K. Machner

Eine papierelektrophoretische Methode zur Trennung und Bestimmung von Riboflavinnucleotiden teilen K. Yagi und Y. Matsuoka[2] mit. Sie benutzen die Apparatur von M. Kobayashi[3], die laut Zeichnung den üblichen entspricht. Werden Riboflavin, Flavinmononucleotid und Flavin-adenin-dinucleotid als Streifen 8 cm vom Anodenende entfernt aufgetragen, so sind sie mit 0,05 m Phosphatpuffer p_H 8,0 bei 2,44 Milliamp./cm in 2 Std (Papierstreifen 12×23 cm) gut getrennt. Die Wanderungswege betragen in der oben angeführten Reihenfolge in 1 Std 7, 35 und 28 mm. Die im UV-Licht gut erkennbaren Areale werden ausgeschnitten, zerteilt, in ein 10 ml-Kölbchen plus 9 ml Wasser gebracht, 15 min auf 80° C

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **1**, 475—477 (1956). Univ. Heidelberg.
[2] J. Biochemistry (Tokyo) **42**, 757—762 (1955). Univ. Nagoya (Japan).
[3] J. physico-chem. Biol. (Japanisch) **2**, 3 (1954).

erwärmt, nach dem Abkühlen auf 10 ml aufgefüllt, filtriert und unter Verwendung eines Blindwertes (eluiertes Papier ohne Flavine) ausgewertet. Das erfolgt bei mehr als 1 μg/ml durch Messung der Lichtabsorption bei 450 mμ, bei weniger auf Grund der Lumiflavinfluorescenz mit dem Mikrophotofluorimeter. Die Substanzen werden zu 100 $\pm$ 5% wieder gefunden. E. Müller, Würzburg

Das polarographische Verhalten von Flavin-adenin-dinucleotid (FAD) hat Y. Asahi[1] mit dem *Verhalten von Riboflavin* und dessen Estern verglichen. FAD zeigt in alkalischer Lösung eine einzige, in saurer Lösung auch eine zweite (anomale) Stufe. Die Höhe der Stufen (in saurer Lösung die Summe) ist unabhängig vom p_H-Wert und der Konzentration proportional. Die Halbstufenpotentiale werden mit Anwachsen des p_H-Wertes negativer. FAD und Riboflavin (Diffusionsstromkonstanten 1,9 bzw. 2,49) werden zur Dihydroverbindung reduziert. Die anomale Stufe läßt sich durch Adsorptionseffekte deuten. FAD und Riboflavin können nur einzeln polarographisch bestimmt werden. Die Halbstufenpotentiale für Riboflavin, für das Borat, für den Methylester, für das Monophosphat und das Sulfat werden für 10^{-3} m Lösungen in Phosphatpufferlösung von p_H 6,8 bestimmt zu — 0,470, — 0,468, — 0,445, — 0,470 und — 0,525 V. K. Cruse

Eine empfindliche Methode zur Bestimmung von Ribonucleinsäure in Geweben und Mikroorganismen gibt J. M. Webb[2] an. Das wesentlich Neue der Methode ist die Anwendung von p-Bromphenylhydrazin an Stelle von sonst üblichem Orcin oder Phloroglucin. Dadurch wird eine 1,5 mal stärkere Farbintensität erzielt. Durch Xylolextraktion erreicht man eine Konzentration des farbgebenden Furfurals und gleichzeitig eine weitgehende Ausschaltung störender Substanzen. Desoxyribonucleinsäure hat keinen Einfluß auf die Bestimmung. Verf. ermittelt in eingehenden Untersuchungen die optimalen Bedingungen für das Verfahren. — *Ausführung.* Das biologische Material wird mit kalter 10%iger Trichloressigsäure gewaschen, mit Alkohol und Äther entfettet und direkt oder als Trockenpulver zur Bestimmung benutzt. Je nach Fall hydrolysiert man mit 2 oder mit 3 ml 5%iger Trichloressigsäure 30 min im siedenden Wasserbad und verdünnt dann mit dem gleichen Volumen (2 oder 3 ml) 5%iger Trichloressigsäure. 1 ml dieser Verdünnung soll 0,75 bis 6,0 mg Organtrockenpulver bzw. 9—200 μg Ribonucleinsäure (RNS) entsprechen. In gleicher Weise stellt man 100 ml Stammstandardlösung von hydrolysierter RNS her, so daß 1 ml Lösung 1 mg RNS enthält. Für geringere Konzentrationen verdünnt man mit 5%iger Trichloressigsäure. In einem 12 ml-Zentrifugenglas versetzt man 1 ml verdünntes Hydrolysat mit 1 ml 8 n Salzsäure, 1 ml Xylol und so viel festem Natriumchlorid wie zur Sättigung der Mischung nötig ist. 1 ml Standardlösung entsprechender Konzentration (gewöhnlich 150 μg) und außerdem 1 ml 5%ige Trichloressigsäure als Blindwert werden ebenso behandelt. Die Zentrifugengläser kommen nach Verschluß für 3 Std in ein siedendes Wasserbad. Nach dem Abkühlen setzt man 2 ml Xylol zu, mischt und zentrifugiert. 2 ml der Xylolschicht pipettiert man in ein 5 ml-Meßkölbchen, setzt 2 ml einer 2,5%igen p-Bromphenylhydrazinhydrochloridlösung in salzsaurem Alkohol (100 ml 95%iger Alkohol + 2 ml 37%ige Salzsäure) zu. Diese Lösung hält sich nur 1 Tag, sie wird mit 1 g Norit A/30 ml entfärbt. Man schließt die Kölbchen mit Schliffstopfen, mischt und läßt 1 Std bei 37° C stehen. Nach Auffüllen zur Marke und Mischen mißt man die Extinktion gegen den Blindwert bei 450 mμ. E. Müller, Würzburg

[1] J. pharmac. Soc. Japan 76, 378—383 (1956) [Japanisch]. (Nach engl. Zus.fass. refer.) Pharmaceutical Industries Ltd., Takeda (Japan).

[2] J. biol. Chemistry 221, 635—649 (1956). Dptm. Health, Educat. Welfare, Bethesda, Md. (USA).

Über analytische Bilanzstudien bei der Gärung mit Bacterium coli berichtet R. PALLAUD[1]. Es handelt sich um eine Auswahl und Zusammenstellung bekannter, teils älterer Methoden, die in geringer Abänderung zum Nachweis oder (und) zur Bestimmung der Stoffwechselprodukte benutzt werden können, die beim Wachstum der Mikroorganismen (hier als Beispiel B. coli) in Glucoselösung entstehen können. Folgende Stoffwechselprodukte werden berücksichtigt; Gase: Kohlendioxyd, Wasserstoff und Methan; flüchtige Säuren: Ameisen- und Essigsäure; nichtflüchtige Säuren: Milchsäure, Bernsteinsäure und Brenztraubensäure; Äthyl- und Butylalkohol; Acetaldehyd; Acetylmethylcarbinol und Diacetyl. Von keiner der aufgezählten Verbindungen ist angegeben, in welcher Menge sie in einem Ansatz vorkommt.

E. MÜLLER, Würzburg

Zwei Methoden zur Aktivitätsbestimmung von γ-Glutaminyltranspeptidase geben E. G. BALL, J. P. REVEL und O. COOPER[2] an. Das Ferment (I) katalysiert unter anderem die Transpeptidisierung Glutathion + Aminosäure → γ-Glutaminylpeptid + Cysteinylglycin. Das hier benutzte wurde mit kleinen Modifikationen nach J. H. KINOSHITA und E. G. BALL[3] aus Rindernierenrinde dargestellt. In eingehenden Untersuchungen werden die optimalen Bedingungen für die beiden Methoden ermittelt. Die manometrische (I) beruht auf der Umsetzung 2 Cysteinylglycin + Fe^{++} + 2 CO → $(Cysteinylglycin)_2\ Fe(CO)_2$, die andere (II) darauf, daß Glutathion nach J. W. PATTERSON und A. LAZAROW[4] mit Alloxan eine noch unbekannte Verbindung gibt, die ein Absorptionsmaximum bei 305 mμ aufweist. Die Ergebnisse beider Methoden stimmen recht gut überein. — *Ausführung.* I. *Manometrische Methode.* Der Hauptraum eines Warburg-Gefäßes enthält 2,0 ml 0,1 m Boratpuffer p_H 9,0 und eine Aminosäure oder einen anderen γ-Glutaminylacceptor (Menge nicht angegeben). In einem Seitengefäß befindet sich die Fermentlösung und im anderen 0,2 ml 0,1 m Glutathionlösung (20 μMol) und frisch bereitete 0,05 m Eisen(II)sulfatlösung (7,5 μMol). Man verdrängt die Luft durch CO, das u.U. zur O_2-Beseitigung durch Pyrogallollösung geleitet wird, und entleert schnell beide Seitenarme, deren Inhalt so bemessen sein soll, daß sich im Hauptraum jetzt 3,0 ml befinden. Der p_H-Wert liegt nun bei 8,6—8,7. Bei 38° C Badtemperatur liest man in 5 min-Intervallen ab. — *Alloxanmethode.* Die Reaktion läuft in Thunberg-Röhrchen unter reinem Stickstoff ab. Jedes Röhrchen enthält 2,0 ml 0,1 m Boratpuffer, Fermentlösung und Wasser oder Aminosäurelösung, so daß ein Gesamtvolumen von 2,7 ml resultiert. Im Seitenarm befinden sich 0,3 ml Glutathionlösung (meist 20 μMol), durch deren Eingießen bei 38° C die Reaktion gestartet wird. Nach gewünschten Zeitintervallen pipettiert man 0,5 ml in eine Mischung aus 3,5 ml Wasser und 1,0 ml 25%iger Metaphosphorsäurelösung. Zu 0,25 ml Filtrat gibt man unter Mischen in folgender Reihenfolge 0,25 ml 5%ige Metaphosphorsäure, 1,2 ml Wasser, 1,0 ml frisch bereitete 0,1 m Alloxanlösung, 1,0 ml 0,5 m Phosphatpuffer p_H 7,5 und 0,3 ml 1,0 n Natronlauge (die beiden letzten Reagentien in schneller Aufeinanderfolge). Der p_H-Wert muß nahe 7,5 liegen. Jedes Röhrchen bleibt nach dem Zusatz genau 6 min stehen und wird dann unter Mischen mit 1,0 ml 1,0 n Natronlauge versetzt. Die Auswertung erfolgt bei 305 mμ unter Berücksichtigung eines Glutathionstandardansatzes und eines Blindversuches. Genaue Einzelheiten über die Reaktionsabläufe mögen im Original eingesehen werden.

E. MÜLLER, Würzburg

---

[1] Chim. analytique **38**, 381—391 (1956).

[2] J. biol. Chemistry **221**, 895—908 (1956). Harvard Med. School, Boston, Mass.

[3] J. biol. Chemistry **200**, 609 (1953).

[4] GLICK, D.: Methods of Biochemical Analysis, New York **2**, 273 (1955).